

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES
PROPRIÉTÉS EMBRYOTOXIQUES
DE LA THALIDOMIDE**

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 16 Avril 1964

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Paul DELATOUR

Né le 29 Novembre 1939, à DOLE (Jura)



LYON

Imprimerie BOSC Frères
42, quai Gailleton, 42

1964

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DES PROPRIETES EMBRYOTOXIQUES
DE LA THALIDOMIDE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 1964 — N° 19

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES
PROPRIÉTÉS EMBRYOTOXIQUES
DE LA THALIDOMIDE**

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 16 Avril 1964

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Paul DELATOUR

Né le 29 Novembre 1939, à DOLE (Jura)



LYON

Imprimerie BOSC Frères
42, quai Gailleton, 42

1964

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur	M. FLORIO
Directeur honoraire	M. JUNG
Directeur honoraire	M. TAPERNOUX
Professeur honoraire	M. CUNY

PROFESSEURS

14 chaires

Pharmacie et Toxicologie	MM. TAPERNOUX
Anatomie descriptive, Extérieur, Anatomie appliquée	BARONE
Physiologie, Thérapeutique, Pharmacodynamie	BOST
Histologie, Embryologie, Anatomie pathologique	LUCAM
Hygiène et industrie des aliments d'origine animale	FLACHAT
Zoologie appliquée, Parasitologie externe, Parasitologie interne .	EUZEBY
Pathologie médicale des équidés et des carnivores. Législation vétérinaire	FLORIO
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	COTTEREAU
Technique chirurgicale, Pathologie chirurgicale	COLLET
Obstétrique, Pathologie de la Reproduction	BERTRAND
Microbiologie, Immunologie, Maladies contagieuses, Police sani- taire	JOUBERT
Ethnologie, Hygiène, Zootechnie, Economie rurale	FROGET
Botanique appliquée, Agronomie, Alimentation	JEAN-BLAIN
Physique et Chimie biologiques et médicales	MAGAT

CHEFS DE TRAVAUX

MM. FERNEY, RUCKEBUSCH, Agrégés.
MM. BUSSIERAS, LAPRAS, LE NIHOUANNEN, OUDAR, VAN HAVERBEKE,
JEAN-BLAIN Claude

ASSISTANTS

MM. BLAVIGNAC, CHANTEGRELET, PROY, VERINE

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : Monsieur le Professeur DECHAUME, de la Faculté de Médecine.
Premier Assesseur : Monsieur le Professeur BERTRAND, de l'Ecole Vétérinaire.
Deuxième Assesseur : Monsieur le Professeur A. TAPERNOUX, de l'Ecole Vétérinaire.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MA MERE

Qui n'aura pas vu dans ces quelques pages l'aboutissement de tout ce qu'elle s'est imposé pour moi. Sa bonté et son courage resteront des exemples difficiles à suivre.



A LA MEMOIRE DE Claudine CHIPPAUX (Vétérinaire)

Cette camarade aînée qui a patronné avec tant de bienveillance mon entrée à l'Ecole Vétérinaire de Lyon. Que sa famille voie ici l'amitié et l'estime que je lui portais.

A MON PERE

Médecin-Colonel, Spécialiste O.R.L. des Hôpitaux Militaires

Son exemple m'a enseigné la minutie et le souci de la précision ; peut-être ce modeste travail en aura-t-il bénéficié ? Qu'il voie ici la marque de mon amour filial et de ma reconnaissance pour les sacrifices qu'il n'a cessé de consentir pour mon éducation et ma formation.

A MA FAMILLE

Pour tout ce que je lui dois.

Aux Docteurs Georges et Guy CANTENOT (Vétérinaires)

Leur compétence fait d'eux des Oncles estimés, et leur conscience professionnelle, de véritables exemples. Qu'ils acceptent de recevoir l'expression du respect et de la reconnaissance que je leur dois.

A TOUS MES AMIS

A Monsieur le Professeur J. DECHAUME
*Professeur de Clinique Neuro-Psychiatrique
et d'Hygiène Mentale
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon*

Il a bien voulu nous faire le grand honneur d'accepter la Présidence de notre Jury de thèse. Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur M. BERTRAND

*Professeur de Pathologie de la Reproduction et d'Obstétrique
à l'Ecole Vétérinaire de Lyon*

Il nous a inspiré ce travail et fut pour nous d'une aide précieuse au cours de son élaboration.

Nous tenons à le remercier sincèrement pour l'accueil qu'il nous a toujours réservé.

A Monsieur le Professeur A. TAPERNOUX

*Directeur Honoraire de l'Ecole Vétérinaire de Lyon
Professeur de Toxicologie à l'Ecole Vétérinaire de Lyon*

Il a bien voulu s'intéresser à cette modeste contribution et nous le remercions d'avoir accepté de juger notre travail.

A Monsieur le Professeur J. FERNEY

*Chef de Travaux Agrégé de Pathologie de la Reproduction
et d'Obstétrique
à l'Ecole Vétérinaire de Lyon*

Il fut pour nous, durant nos quatre années d'Ecole, un conseiller sûr et un Maître dévoué. Qu'il trouve ici l'assurance de notre entière gratitude.

A Monsieur R. DAMS

*Docteur Vétérinaire
Attaché de Recherches au Laboratoire de Virologie
de l'Ecole Vétérinaire de Lyon*

Son savoir, sa technicité et son expérience en matière d'investigations sur œuf font de lui un Maître en ce domaine. Nous le remercions vivement pour son aide décisive et la bienveillance qu'il nous témoigne.

A Mesdemoiselles Janine FARGIER, Nicole VALLAT

*Techniciennes au Service de Pathologie de la Reproduction
et d'Obstétrique
de l'Ecole Vétérinaire de Lyon*

Mieux que quiconque, elles savent la part active qu'elles ont prise à notre expérimentation sur la rate. Qu'elles voient ici le signe de notre amitié et de notre reconnaissance.

A TOUS LES DOCTEURS-VETERINAIRES PRATICIENS
QUI ONT CONTRIBUE
A NOUS ENSEIGNER AVEC AMOUR
NOTRE PROFESSION

INTRODUCTION

« C'est seulement quand je pourrai dire que je peux vacciner (contre la rage) à coup sûr un nombre quelconque de chiens mordus que j'oserai passer à l'homme. Et encore, ma main tremblera, car ce qui est possible sur le chien peut ne pas l'être sur l'homme. »

L. PASTEUR.

La fécondation, qui marque le point initial du développement embryonnaire par la fusion des deux gamètes, donne naissance à un nouvel individu. A ce stade, on est en présence d'une cellule unique, de taille et de morphologie jeune et indifférenciée. Son noyau, formé pour moitié par le spermatozoïde et pour moitié par l'ovule, porte à la fois le sceau paternel et maternel de telle sorte qu'embryologiquement le devenir de cette cellule est déterminé de façon précise. A l'issue de la gestation, ou de l'incubation, selon les espèces, l'œuf n'aura fait qu'exprimer sa potentialité génétique. Le jeune animal sera un représentant de tel embranchement, de tel ordre, de telle famille et de telle espèce.

Or, en l'espace d'un laps de temps relativement court, cet œuf, par divisions multiples et par différenciations histologiques aura permis l'édification d'un organisme complexe, quasiment parfait et d'une importance pondérale appréciable. C'est dire les nombreux phénomènes de biosynthèse que cela implique, synthèses elles-mêmes tributaires d'un apport exogène considérable de substances chimiques diverses : acides aminés, sucres simples, acides gras, sels minéraux, vitamines.

En schématisant, deux modalités se présentent, permettant de satisfaire ces exigences du développement ontologique :

a) *L'œuf va se trouver séparé de l'organisme maternel* et perd très précocément tout contact biologique avec lui. Il est alors associé au sein des mêmes enveloppes, à une abondante quantité de vitellus et d'albumen dont la masse, durant l'incubation, s'amenuisera au fur et à mesure que se développera l'embryon. Il s'agit de l'œuf télolécithe des sélaciens, des reptiles, des oiseaux et des mammifères protothériens.

b) *L'œuf est de taille microscopique*, totalement dépourvu de réserves, en conséquence de quoi, il est parfaitement incapable de toute évolution par lui-même. Il subsiste temporairement en relations étroites avec l'organisme maternel qui, par voie hématogène, lui apportera les éléments propres à assurer l'édification d'un organisme apte à vivre de façon autonome dans le milieu extérieur. C'est l'œuf alécithe de la plupart des mammifères.

Dans ces conditions le milieu intérieur fœtal étant sous la dépendance étroite du milieu intérieur maternel, on comprendra qu'il ne sera possible à l'embryon de s'épanouir normalement et de conserver son intégrité que dans la mesure où la gestation l'aura maintenu dans les conditions optimales de développement. Dans le cas inverse, on sera en droit de s'attendre à voir apparaître divers incidents ou accidents au cours de la gestation. L'exemple de nombreuses malformations survenues dans plusieurs pays entre les années 1960 et 1962 sur des enfants dont les mères avaient pris durant la grossesse, un tranquilisant nouvellement commercialisé en est le cas le plus récent et le plus démonstratif. C'est précisément ce médicament qui fait l'objet de cette étude.

Nous tenons à remercier bien vivement M. le Professeur Bertrand pour la marque de confiance qu'il nous a témoignée en nous proposant comme sujet de thèse de doctorat,

une « Contribution à l'étude des propriétés embryotoxiques de la Thalidomide » ; pour l'aide précieuse et les conseils qu'il n'a jamais cessé de nous prodiguer, ainsi que pour l'accueil qu'il nous a toujours réservé dans son laboratoire au cours de nos quatre années d'études à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

Après avoir rappelé succinctement — à la seule fin de replacer dans leur contexte les malformations fœtales — les principaux accidents de la gestation, nous envisagerons les généralités sur les tératogènes, leur nature, les diverses anomalies qu'ils engendrent, leurs modes d'action, les conditions de leur relativité... Puis nous étudierons la Thalidomide, ce que l'on attendait d'elle en thérapeutique, les incidents et accidents dont elle est responsable. Enfin, nous relaterons diverses expérimentations dont elle a fait l'objet, les conclusions qui s'en dégagent ; en dernier lieu, seront rapportées les expériences menées au laboratoire de Pathologie de la Reproduction et l'interprétation qu'elles permettent.

CHAPITRE PREMIER

QUELQUES ACCIDENTS DE LA GESTATION .

Les accidents de la gestation sont nombreux et variés.

De multiples causes gynécologiques ou non peuvent compromettre l'évolution normale de la gravidité en portant atteinte électivement au fœtus sans mettre sérieusement en danger la santé de la mère. On peut établir une gradation dans la sévérité des accidents enregistrés.

Le phénomène pathogène agit de telle sorte, sur le fœtus, qu'il provoque sa mort *in utero*. Suivant le degré de développement de l'embryon, les choses peuvent évoluer selon deux modalités différentes :

a) *Le fœtus meurt précocément.* Le plus souvent, il n'est pas expulsé, mais est progressivement résorbé. Le fait est fréquent chez les espèces multipares où il est considéré comme physiologique : une rate présentera douze embryons, par exemple, lors de la laparotomie au dixième jour de gestation et ne mettra au monde que dix ratons. Dans l'espèce porcine, la même constatation a été faite il y a quelques années chez les races sélectionnées par consanguinité (race Large White en particulier), en raison de nombreux gènes léthaux qui existent chez ces animaux.

b) *Le fœtus meurt plus tardivement.* Si la cause de la mort est intervenue de façon brutale, le plus souvent, le fœtus sera expulsé immédiatement ; mais à l'inverse, si la cause, fut-elle identique, agit progressivement et avec une intensité faible, le fœtus tué peut être toléré longtemps

par la femelle et parfois bien au-delà de la durée fictive de la gestation.

A un degré moindre, la femelle peut mettre fin à la gestation en expulsant son produit à un stade où celui-ci n'est pas encore en mesure de pouvoir vivre de façon autonome dans le milieu extérieur. Le fœtus, ici, est expulsé vivant, mais il meurt le plus souvent peu après l'accouchement. Cette éventualité se rencontre parfois dans certaines infections génitales : vibriose, brucellose des ruminants ; dans certaines intoxications exogènes ou endogènes aiguës chez la chienne ; et dans toutes les maladies infectieuses générales fortement hyperthermisantes : particulièrement, septicémie à *E. insidiosa* chez le porc.

Si l'agent toxique intervient de façon discrète pendant une période bien déterminée de la gestation, mais plus particulièrement au cours du premier tiers, on observera sur les fœtus l'éclosion de malformations. Il s'agit là d'accidents tératologiques. Nous y reviendrons en détail ultérieurement.

Enfin, au degré moindre, sont à mentionner les hypersensibilités fœtales d'ordre thérapeutique : tel anticoagulant, par exemple, sera salubre à la santé de la mère et néfaste à celle du fœtus (Boquet).

A propos de ces accidents de la gestation et du développement embryonnaire, disons que le plus souvent, il n'y a pas de lien étroit entre la cause et son effet. Tel déterminisme, selon ses modalités d'action, orientera l'évolution de la gestation vers l'une ou l'autre issue ; mieux même, sur une femelle multipare donnée, il ne sera pas rare de constater simultanément des effets différents d'un fœtus à l'autre : retards de développement, malformations véritables, résorptions, tandis que certains fœtus naîtront parfaitement constitué. Assurément, à telle étiologie, ne sera pas toujours associé l'éventail complet de tous les accidents possibles, mais il n'en reste pas moins que toutes ces manifestations correspondent aux divers aspects d'un seul et même phénomène : le complexe des Embryopathies.

CHAPITRE II

LES TERATOGENES

A. — Définition

On qualifie de « tératogène », au sens large, toute cause susceptible d'entraver, de façon plus ou moins accusée, le développement embryologique d'un être vivant.

Du point de vue étymologique, la tératologie a pour objet la description et l'étude du déterminisme des anomalies congénitales véritablement monstrueuses ; mais en fait, entre l'individu normal et le monstre se trouve toute une série d'anomalies de sévérités très diverses qui sont également du ressort de cette discipline. Il y a plus : la tératologie expérimentale portera aussi toute son attention sur les résorptions « in utero », les avortements et les prématurités touchant des fœtus de constitution normale.

Enfin, par tératogène, on entend communément une substance tératogène. De fait, les molécules tératogènes sont nombreuses, mais ceci ne doit pas faire oublier les génopathies d'origine chromosomique, les malformations déterminées par un mauvais état de la muqueuse utérine, par des infections et des agents physiques les plus divers : rayonnements, facteurs mécaniques, températures...

Nous nous intéresserons essentiellement dans notre travail aux tératogènes chimiques.

B. — Leur nature, leurs effets

Infections : parmi les infections, la première place revient, dans l'espèce humaine, aux infections virales et

surtout à la rubéole (34). Les anomalies les plus fréquentes sont la cataracte, la persistance du trou de Botal et du canal artériel, l'indifférenciation de l'appareil de Corti. Des accidents du même ordre sont imputés à d'autres virus de l'homme : virus des oreillons, de la rougeole, de la varicelle et du zona (43). Chez les animaux, des phénomènes semblables sont connus. Le virus de l'influenza (38) peut provoquer des malformations nerveuses de même que celui de Newcastle. Le virus de la peste porcine fait apparaître des altérations du nez, des reins ; des ectopies testiculaires et des cloisonnements de la vésicule biliaire (83). *Toxoplasma gondi* provoque chez l'homme des malformations sévères, et chez la rate des avortements pouvant toucher jusqu'à 55 p. 100 des fœtus (30).

Facteurs mécaniques : Sur des œufs d'oiseaux, des vibrations rapides provoquent de la platyneurie, ou favorisent l'éclosion de malformations spontanées. Chez les mammifères, des compressions dans certains cas de gémellité ou d'oligo-amnios seraient responsables d'omphalocéphalies, tandis que des brides amniotiques détermineraient des amputations de membres à la manière d'une ligature élastique (77).

Température : L'action des écarts de température — tant en deçà qu'en delà de la normale — engendre de nombreuses malformations. Une élévation fait réduire la taille des ailes de la drosophile (72) ; l'hypothermie chez la rate entraîne des retards de croissance ; une température de 39 à 40 degrés portant sur l'embryon de poulet, a pu déclencher jusqu'à 42 p. 100 de célosomies (1).

Radiations : Parmi les agents physiques, une place prépondérante revient aux radiations. Les malformations en cause furent d'abord observées dans l'espèce humaine à la suite de radiothérapie ou radiumthérapie inconsidérées portant sur des femmes enceintes, à une époque où l'on ignorait tout des dangers encourus par le fœtus. Aschen-

heim (2), en 1920, fut le premier à signaler un cas de microcéphalie — microphthalmie chez un nouveau-né dont la mère, pendant les quatre premiers mois de la grossesse, avait suivi un traitement aux rayons X pour myome utérin. De nombreuses autres observations portant sur l'homme et sur l'animal, n'ont fait que confirmer ultérieurement la chose.

Des accidents comparables ont été attribués aux U.V. (17), aux ultra-sons (6), aux rayons du radium (45), et à ceux de la bombe atomique (82).

Toutes ces catégories d'agents manifestent un pouvoir tératogène plus ou moins important, néanmoins, aucune d'entre elles n'est responsable d'accidents aussi nombreux et aussi variés que ne l'est le groupe des substances chimiques. Ces substances seront classées sous différentes rubriques : les unes sont indispensables au métabolisme cellulaire général de l'embryon, ce sera alors leur déficience voire leur carence dont le fœtus souffrira : il s'agit des déficiences alimentaires ou de dysfonctionnements glandulaires touchant la femelle par excès ou par défaut ; les autres se trouvent dans le milieu intérieur maternel de façon occasionnelle, on aura alors affaire à tous les constituants artificiels de la chimiothérapie.

Déficiences alimentaires globales : chez l'homme, la déficience alimentaire totale est relativement bien supportée. On n'enregistre au pire, que des prématurités, mais aucune anomalie anatomique n'est signalée. Sur la souris cependant, le jeûne complet au 9^e jour est rendu responsable de pseudo-encéphalie et de soudures des côtes (75).

Carences minérales : Des micromélies (46) seraient dues à un manque de Manganèse. Sur le porcelet et le chevreau (60), des hypertrophies thyroïdiennes et des altérations des phanères sont dues à une alimentation dépourvue d'Iode. Chez la femme, il a été signalé que dans certaines populations, un taux inhabituel d'anomalies infan-

tiles s'est normalisé par addition de ce métalloïde à l'alimentation.

Carences protéiques : Les protéines sont également indispensables à l'évolution de la gestation, mais uniquement, semble-t-il, en raison des acides aminés essentiels qu'elles apportent. La carence protéique vraie n'est pas tératogène, elle n'entraîne, dans l'espèce humaine, que des réductions de taille et de poids des nouveau-nés. Mais il n'en va pas de même lors de déficience en tryptophane qui, chez la rate, provoque des cataractes (69). On a même réalisé des carences conditionnées par usage d'antagonistes électifs. Sur l'embryon de poulet, les antagonistes de la phénylalanine sont responsables d'anomalies du système nerveux ; ceux de la leucine, d'absences de segmentation du mésoblaste (41) et ceux de la méthionine, de troubles graves du développement général (19).

Avitaminoses : De nombreux troubles sont reconnus comme consécutifs à des avitaminoses plus ou moins sévères. Certains d'entre eux n'ont rien d'une anomalie tératologique véritable, ils se manifestent au contraire comme des anomalies carentielles banales. C'est ainsi que l'avitaminose D se traduit sur le nouveau-né par du rachitisme, la carence en vitamine K fait apparaître des hémorragies et l'insuffisance en cyanocobalamine se traduit par un certain degré d'anémie. Il n'en va cependant pas de même dans quelques cas bien déterminés.

La déficience en axérophthol, sur le porc, est agent de microphthalmie, de fentes palatines et de becs de lièvres (37) ; sur le veau, on observe parfois de la cécité par compression du nerf optique (64). Sur le lapereau (62), apparaît de l'hydrocéphalie par sténose du canal de Sylvius ; les phénomènes de compression qui en découlent sont responsables de cécité et de divers autres troubles nerveux. La carence en vitamine A est également responsable de diverses autres anomalies telles que : reins flottants, ectopies testiculaires, atrésies du bassinet rénal

défauts de cloisonnements cardiaques et des arcs aortiques de type primitif à deux crosses.

La carence en riboflavine est tératogène surtout sur l'embryon de poulet où l'on observe de la brachymélie, des altérations du foie, une réduction générale de la taille (73), des dégénérescences du mésonéphros, des œdèmes et des troubles de l'apparition du duvet (58). Giroud et Lefèbvre, sur le raton, ont signalé des fissurations palatines, des raccourcissements de la machoire inférieure, des syndactylies et des soudures de côtes (25).

Le défaut d'acide pantothénique détermine de l'exencéphalie (57) avec continuité de substance entre l'épiderme et le tissu nerveux tandis que les cavités épendymaires communiquent avec l'extérieur. Dans les cas extrêmes, on a affaire à de l'anencéphalie complète avec anophthalmie.

Un régime déficient en acide folique fait apparaître 2 p. 100 d'hydrocéphalies qui disparaissent par addition de ce facteur. Par usage d'acide méthylfolique, antagoniste de la vitamine on obtient 20 p. 100 d'hydrocéphalies. De plus, des becs de lièvres, des ectopies viscérales variées et d'innombrables anomalies oculaires (28) ont été observées. Chez l'homme, l'aminoptérine, autre antagoniste de l'acide folique, utilisée comme abortif est responsable de plusieurs anormaux : une fissuration palatine, une hydrocéphalie, et un encéphaloméningocèle (79) en particulier.

A propos des vitamines notons que certaines hypervitaminoses sont tout aussi néfastes au fœtus que les avitaminoses correspondantes. Un excès d'acide nicotinique, par exemple, se traduit sur l'embryon de poulet par des malformations nerveuses et vasculaires (39). Mais, les faits les mieux établis concernent la vitamine A. L'administration de grandes quantités d'axérophthol à la rate s'extériorise par des anomalies encéphaliques (10), des microphthalmies et des fentes palatines sur plus de 50 p. 100 des embryons (29).

Métaux : Quelques métaux se sont révélés manifestement tératogènes. Chez le poulet, le plomb engendre de la platyneurie (8) ; chez l'homme, il serait responsable d'hydrocéphalie d'idiotisme et d'épilepsie (71). L'« Alkali-disease » a été identifiée aux Etats-Unis, à un apport excessif de Sélénium (64). Elle se traduit par des anomalies du système nerveux, des cyclopies et des malformations des extrémités. Ces divers troubles du développement ont été reproduits au laboratoire par Landauer (47) ; le même auteur a réalisé des syndactylies, des fissurations palatines et des colobomes de la face par intoxication au bore (51).

Hormones : Landauer (48) a montré que sur le poulet, l'Insuline pouvait sinon provoquer du moins favoriser l'éclosion de diverses anomalies : anourie, micromélie, malformations du bec. Une expérimentation précise lui permettait d'avancer que ces accidents étaient dus à l'hypoglycémie provoquée par cette hormone. Le rôle tératogène propre de l'Insuline n'est pas établi.

Dernièrement, Tuchmann-Duplessis (80) opérant sur la souris et la rate, faisait exactement la même observation à propos du Glucagon.

La cortisone et l'hydrocortisone seraient responsables, en particulier, de fentes palatines (20) ; mais ces observations ne sont pas unanimement admises (11). L'ACTH, par contre, provoque ces mêmes anomalies de façon certaine (20).

L'adrénaline détermine des amputations de la queue et des membres secondaires à des lésions vasculaires (42).

Avec la thyroxine Giroud et Martinet (27) ont obtenu, chez le rat, jusqu'à 20 p. 100 de cataractes.

Largeement utilisées chez l'homme en Gynécologie, les hormones sexuelles ne semblent pas faire courir un gros risque au fœtus (61). Cependant, quelques cas de pseudohermaphrodisme ont été observés sur des fillettes après imprégnation androgénique en fin de gestation (36). Des

syndromes analogues de masculinisation sont imputables aux progestatifs (70). Avec les œstrogènes, furent réalisées des intersexualités chez le rat (35), des fissurations palatines et des atrésies palpébrales chez la souris (68).

Agents chimiothérapiques : Signalons enfin que de nombreux agents chimiothérapiques appartenant à toutes les catégories : sulfamides, antiseptiques, cytostatiques, alcaloïdes, colorants... se sont révélés tératogènes tant en clinique qu'au laboratoire.

Sur l'embryon de poulet, la ricine et l'ésérine provoquent des célosomies ; le paraminobenzènesulfamide, des brachygnathies et de l'achondroplasie ; la colchicine, de la strophosomie ; la tryptaflavine des colobomes de la face... La chlorétone (54), le dinitrophénol (14), la phlorizine (78) sont inhibiteurs de la différenciation de l'épiblaste en cristallin. Les moutardes à l'azote déterminent des exencéphalies, des fentes palatines et des anomalies des membres (40).

Chez le rat, le bleu de trypan est responsable d'hydrocéphalies, d'exencéphalies, de spina-bifida, d'anophtalmies et de cloisonnements défectueux des cavités cardiaques (22) (7).

Chez l'homme, la quinine est responsable de surdités congénitales ; l'hexaméthylène-tétramine risque de provoquer l'expulsion prématurée du fœtus (16). Peut-être verrait-on baisser le pourcentage des malformations considérées comme spontanées si des enquêtes sérieuses et étendues nous apprenaient à connaître les médications contre-indiquées chez la femme enceinte (18).

En raison de la multiplicité et la diversité des agents susceptibles de déterminer des troubles du développement embryo-fœtal, il apparaît que la gamme des tératogènes est loin de posséder l'homogénéité que l'on rencontre, par exemple, parmi les sulfamides ou les corticoïdes. Le pouvoir tératogène d'une molécule n'est pas lié à la présence de tel ou tel radical chimique qu'elle comporterait ou à une architecture particulière. Aussi, plutôt que de pré-

tendre établir une liste limitative des tératogènes, serait-il moins hasardeux de dire que d'une façon générale, toute molécule, dès l'instant où elle est douée d'une propriété pharmacodynamique — donc d'une certaine toxicité — risque d'induire l'éclosion de malformations congénitales. Mieux même, le caractère tératogène est, sans doute, moins le fait spécifique de la molécule, qu'il n'est lié au réactif biologique éminemment fragile et plastique sur lequel une agression médicamenteuse quelconque intervient : l'embryon.

C. — Classification des Tératogènes

Face à l'impossibilité de classer les tératogènes par appartenances chimiques, les auteurs, en général, les groupent en vastes ensembles à l'intérieur desquels ceux-ci agissent par des mécanismes identiques ou voisins.

Ancel les divise en deux grandes catégories (1) :

- les tératogènes à action générale,
- les tératogènes électifs ou tératogènes vrais (44).

Les premiers, tout d'abord, troublent en le ralentissant, le développement général de l'embryon en raison de leur toxicité intrinsèque ; ensuite et de façon accessoire, ils présentent un tropisme plus particulier pour certaines ébauches organiques qui se trouvent en phase de sensibilité au moment où intervient la substance. Mais, ce tropisme n'est pas l'effet d'une affinité d'ordre biochimique entre la substance et le tissu ; il est au contraire dû à la fragilité fortuite du groupe cellulaire qu'elle lèse. Aussi les anomalies obtenues dans ces conditions ne présentent-elles aucune spécificité : ce ne sont que des malformations que l'on obtient aussi bien avec de très nombreux agents physiques. Dans cette catégorie, Ancel place par exemple les cyanures, le formol, le sublimé, le permanganate, les narcotiques...

Les tératogènes électifs, quant à eux, produisent à un stade déterminé du développement, une malformation dite « typique » qui signe l'effet de la substance qui lui a donné naissance. Cette malformation est due — à la différence de ce qui se passe pour les tératogènes à action générale — à une affinité d'ordre enzymatique le plus souvent, entre la molécule et l'ébauche organique. Elle caractérise le tératogène, elle est constante, elle est « pathogénomique ». Eventuellement, à la malformation « typique » peuvent s'associer une ou plusieurs malformations « secondaires » ; mais, en aucun cas celles-ci ne peuvent apparaître en l'absence de l'anomalie « typique ». Outre ce pouvoir tératogène, la molécule possède comme toute autre une toxicité plus ou moins marquée, mais toujours indépendante du pouvoir tératogène. C'est là précisément, la différence fondamentale avec les tératogènes à action générale chez qui le pouvoir tératogène est lié à la toxicité puisqu'il en est, chez l'embryon, la manifestation même.

Certains auteurs proposent une classification plus analytique, et distinguent :

- les cytostatiques,
- les agents générateurs de troubles métaboliques,
- les hypersensibilités fœtales.

Les cytostatiques : Ils interviennent en entravant la multiplication cellulaire de telle ébauche organique ; il en résultera une dysplasie organique plus ou moins sévère. Dans cette catégorie, se trouvent les radiations X et U.V. qui détruisent quasi électivement les cellules au maximum de leur activité. Les alkylants aboutissent au même résultat global en bloquant les mitoses : il s'agit des moutardes à l'azote (40) et de la colchicine (1). Enfin, les antimétabolites qui se comportent vis-à-vis de la cellule de la même façon que les antibiotiques vis-à-vis des bactéries ; c'est-à-dire en entrant en compétition avec un facteur indispensable à la synthèse des nucléoprotéines : par exemple, l'éthionine qui supprime la méthionine, ou le puriméthol qui fait de même avec la purine (9).

Les troubles métaboliques : Nous ne citerons que ceux des glucides qui sont les mieux connus.

La clinique enseigne que chez les femmes diabétiques, le pourcentage d'enfants anormaux est notablement plus élevé que celui des enfants issus de femmes en bonne santé. Sur le rat le glucagon, hormone hyperglycémiant, détermine des anomalies diverses, oculaires et squelettiques en particulier (80). D'autre part, la tolbutamide — sulfamide hypoglycémiant — est rendue responsable de dextrocardies, d'agénésies du septum, d'absences de l'hémi-diaphragme gauche, d'hydrocéphalie et d'anomalies oculaires (53) (76). Il semble donc bien que toute variation de la glycémie est durement ressentie par le fœtus. D'innombrables expériences confirment ces observations par des résultats obtenus sur l'œuf (65) (52) et le rat (4). Tous ces faits se sont éclairés à la lumière d'expériences de carences et de compétition biochimiques. L'on sait en effet que de nombreuses vitamines interviennent dans la structure des enzymes. Toute carence vitaminique se traduira donc par des perturbations fermentaires plus ou moins importantes. La carence en riboflavine, par exemple, détermine une baisse du cytochrome-oxydase ; tandis que la carence en acide folique, une déficience en choline-oxydase, et par contre, une élévation de la déshydrogénase (55). L'action tératogène de l'Insuline peut être prévenue par l'amide nicotinique ; or l'Insuline entraîne chez l'embryon une chute du sucre sanguin qui est corrigée par l'amide nicotinique (49). De la même façon, le pouvoir tératogène de la sulfamide est contre-balancé par la même substance. Peut-être y a-t-il antagonisme entre la sulfanilamide et le coenzyme I, diphosphopyridine-nucléotide, qui intervient en particulier, dans les phénomènes d'oxydations cellulaires (85). Face à tous ces faits, Landauer admet que les perturbations du métabolisme des sucres jouent un grand rôle dans la tératogénèse. Sous une forme plus générale ; n'y aurait-il à l'origine de la plus grande partie des anomalies du développement, des troubles des systè-

mes enzymatiques ? D'où les pertes du pouvoir inducteur, de la compétence et de la croissance spécifique de certains groupes cellulaires (24). Mais il importe de ne pas généraliser trop rapidement, car comme le fait remarquer Tuchmann-Duplessis, tous les sulfamides hypoglycémiants ne sont pas tératogènes (33).

Les Hypersensibilités Fœtales : De tels accidents résultent de l'administration à la femelle gestante d'une substance dont l'action sur le fœtus est beaucoup plus intense que sur l'organisme maternel. C'est à ce genre d'accidents que se rapportent les surdités congénitales dues à la streptomycine ou à la quinine et les amputations des extrémités dues à l'adrénaline. Ici, enfin, se placent les phénomènes hémorragiques que peuvent présenter les nouveau-nés dont la mère a reçu des anticoagulants (5) ; les hypothyroïdies ou aplasies surrénales médicamenteuses.

D. — Stades sensibles

Le développement embryonnaire peut se diviser schématiquement en quatre grandes périodes :

La segmentation qui est l'ensemble des divisions successives de l'œuf en blastomères ayant la valeur de cellules banales.

La gastrulation correspond à l'individualisation des trois feuilletts primitifs fondamentaux :

— l'ectoblaste qui se différenciera lui-même en épiblaste et neurectoblaste,

— le chordo-mésoblaste qui donne naissance à la chorde et au mésoblaste,

— et enfin, l'endoblaste.

L'organogénèse fait apparaître les ébauches des organes à partir des feuilletts mis en place au cours du stade pré-

cèdent. Cette évolution à travers toute la hiérarchie des mammifères, procède toujours, à quelques détails près, de la même manière. Ainsi dans toutes les espèces, les muscles squelettiques sont d'origine mésoblastique tandis que le tube digestif est issu de l'endoblaste.

L'histogénèse enfin, ne fait que parachever le rôle de l'organogénèse. C'est au cours de ce stade que l'on assiste à l'apparition d'organites spécialisés dans le cytoplasme des cellules ; il s'agit donc essentiellement d'une période de différenciation histologique.

C'est lors de l'organogénèse et de l'histogénèse que les cellules se trouvent au maximum de leur activité métabolique, et par conséquent au maximum de leur sensibilité à toutes sortes d'agressions. C'est donc à ces deux stades du développement que les tératogènes manifesteront, au plus haut degré, leur propriété histotoxique.

Tous les tissus et organes de l'embryon ne se trouvent cependant pas en même temps à leur phase de sensibilité maximale. Bien au contraire, chaque ébauche organique passe à son point de susceptibilité optimale à une période bien déterminée. A la vérité, ces phases de sensibilité se succèdent, s'interpénètrent ou se superposent ; elles sont en outre, plus ou moins longues selon le degré de différenciation tissulaire de l'organe considéré. Ainsi, chez l'homme, dans la rubéole, les malformations oculaires peuvent survenir à la suite d'infections intervenant entre le 1^{er} et le 4^e mois. Pour l'oreille, la période de sensibilité est encore plus longue puisqu'elle se prolonge jusqu'à la fin du 6^e mois. Mais, il s'agit là d'exceptions ; pour la plupart des organes la période de sensibilité est infiniment plus brève et se situe tout au début de la gestation. Dans l'espèce humaine, par exemple, la période critique s'étend, selon les auteurs, sur les six au dix premières semaines.

Voici donc expliqué pourquoi deux anomalies coexistent très fréquemment tandis que deux autres ne se trouveront associées que de façon exceptionnelle. Un agent

tératogène déterminé est à même de donner naissance à des malformations très différentes selon le calendrier embryologique.

Le trypan Bleu, injecté à la rate les premiers jours de la gestation, fait apparaître des hydrocéphalies ; tandis qu'il détermine des spina bifida lorsqu'il l'est les 7^e, 8^e et 9^e jours (24).

Le cacodylate de Sodium, injecté précocément à l'embryon de poulet, détermine des altérations du bourgeon caudal et des membres ; et à la 72^e heure, il ne provoque plus que les altérations des membres (1).

L'hypervitaminose A mise en œuvre du 8^e au 11^e jour fait apparaître des anencéphalies ; du 11^e au 15^e, des fentes palatines ; et au-delà du 15^e, des cataractes (31).

Le bore, administré à l'œuf de façon précoce, engendre de l'anurie ; et au 4^e jour, des anomalies de la face et des membres (51).

Des intoxications oxycarbonées légères intervenues chez des femmes gestantes ont produit des troubles différents selon que le fœtus se trouvait au 2^e (56), au 3^e (81), au 6^e (15), au 7^e (56), au 8^e mois (59), ou à quelques jours de l'accouchement (63).

De nombreux autres exemples, tant cliniques qu'expérimentaux, pourraient illustrer encore cette notion fondamentale de la genèse des malformations congénitales : si d'une façon générale, il est vrai qu'un tératogène donné peut sembler posséder un tropisme particulier pour les tissus mésenchymateux, épithéliaux ou glandulaires, il n'en reste pas moins que les délabrements qu'il imposera au fœtus seront essentiellement fonction du stade évolutif de la gestation.

E. — La stimulation Tératogène

Les maladies infectieuses graves provoquent l'avortement ou la mort du fœtus ; ce sont, par contre les infec-

tions bénignes qui sont les plus préjudiciables au développement embryologique du fœtus. Dans le cas de la rubéole, les formes cliniques frustes ne sont pas moins tératogènes que les formes évidentes. Il fut même rapporté le cas d'une femme ayant, au début d'une grossesse, vécu parmi ses enfants atteints de rubéole ; elle ne manifesta aucun symptôme, mais mit au monde un nouveau-né atteint de cataracte et d'anomalies cardiaques. Dans le même ordre d'idées, chez le rat, une toxoplasmose ou une rikettsiose même parfaitement inapparente sur la femelle, n'est pas sans incidence sur la progéniture (30).

Giroud et coll. ont montré que, dans le cas des déficiences vitaminiques tératogènes, la chute de la teneur de la vitamine par rapport à la normale est très faible. Pour l'acide pantothénique, elle n'est que de 17 p. 100, alors qu'il faut descendre à 50 p. 100 pour observer des manifestations carentielles chez l'adulte (32).

Avec la riboflavine, une déficience de 20 p. 100 seulement par rapport à la normale est tératogène (26).

Pour la vitamine A, chez la vache où la teneur sanguine physiologique est de 22 à 25 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, un taux compris entre 10 et 20 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, est à l'origine de cécités, de chéti-vités, voire de mort-natalité chez le veau (13).

Les exemples pourraient encore être multipliés : tous nous enseigneraient que la stimulation tératogène est extrêmement légère, à tel point qu'elle ne se manifeste par aucun symptôme chez la mère. « Il est évident que de nombreux facteurs parfaitement tolérés par la mère, peuvent retentir défavorablement sur le fœtus (Warkany) ». C'est précisément là que réside l'une des difficultés majeures de la prophylaxie des malformations congénitales. Cependant, cette règle générale souffre des exceptions : « A doses très élevées, les produits les plus divers peuvent entraîner des malformations fœtales... » (Chassagne et Lechat) ». *L'aspirine* est de ceux-là. Mais, en principe, toute agression brutale dirigée contre le fœtus provoque

sa mort à brève échéance et l'on sort du cadre de la tératogénèse proprement dite.

Nous verrons ultérieurement que les deux notions de « phases de sensibilité fœtale » et de « légèreté de la stimulation tératogène » sont particulièrement évidentes avec la Thalidomide.

CHAPITRE III

LA THALIDOMIDE

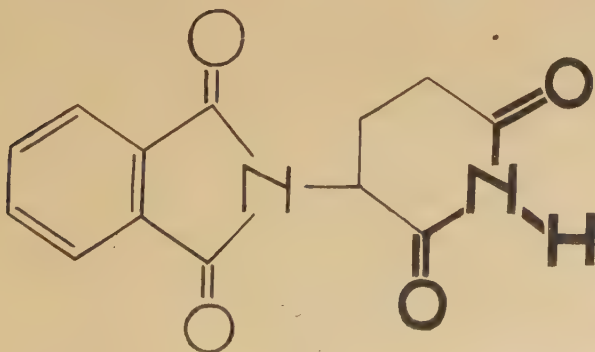
Etude pharmacodynamique

A. — Propriétés physico-chimiques

La Thalidomide se présente sous la forme d'une poudre blanche, très fine et très légère, inodore et d'un goût un peu amer. Au microscope, à fort grossissement, on observe des cristaux assez irréguliers et de forme variable : soit grossièrement polygonaux, soit en raphides.

Son point de fusion est de 271° Centigrades. Elle est peu soluble dans l'eau, les alcools méthylique et éthylique, l'acétone, l'acide acétique et ses esters comme en particulier, l'acétate de butyle. Elle l'est bien dans le dioxane, la pyridine et la diméthylformamide. Elle est, par contre, totalement insoluble dans le benzène, l'éther et le chloroforme.

Du point de vue chimique, c'est un dérivé de la pipéridine et plus précisément, la Thalidomide, qui répond à la formule brute $C^{13}H^{10}O^4N^2$, est la Phtalimido-3, dioxo 2-6, pipéridine ou la N-Phtalyl-glutarimide, ou enfin la α -N Phtalimido Glutarimide.



B. — Etude toxicologique

Toxicité aiguë : Elle est extrêmement faible, à tel point qu'en raison de sa médiocre solubilité dans l'eau, on n'a pas pu évaluer de façon rigoureuse sa DL 50. En effet chez la souris blanche, des doses de 5.000 mg/kg soit 5.000 fois la dose thérapeutique, par voies sous-cutanée et orale, et de 1.500 mg/kg en intra-péritonéale sont bien supportées. Il n'a pas été possible d'expérimenter à fortes doses par voie intra-veineuse pour la même raison.

Un chien de 6,5 kg a reçu 10 g en suspension aqueuse à la sonde œsophagienne. Il n'a présenté aucun phénomène d'intolérance. Ces faits concordent exactement avec les résultats d'absorptions massives de Thalidomide observées en clinique chez l'homme. Toutes les tentatives de suicide ont échoué (121), telle personne de 70 ans ayant pris, par erreur, plus de 2 g. de ce médicament, a somméillé pendant douze heures sans présenter de collapsus cardio-respiratoire (122).

Toxicité sub-aiguë : Pendant 30 jours, 50 souris reçurent quotidiennement 500 mg/kg ; 20 rates reçurent 200 mg/kg ; enfin 20 cobayes et 10 lapins reçurent 100 mg/kg. Au terme de ce traitement, il ne fut constaté aucun signe de toxicité du médicament. Chez ces animaux, il ne fut mis en évidence aucune altération dans la morphologie des éléments des lignées blanche et rouge. Les urines ne subirent aucune modification tant qualitative que quantitative. Il ne fut observé aucun processus inflammatoire aux points d'injection et le poids des animaux resta dans les limites de la normale. Na, K et Ca furent dosés dans le sang des rats qui, durant un mois reçurent quotidiennement 2.500 et 5.000 doses thérapeutiques. Aucune perturbation du taux de ces électrolytes ne fut enregistrée. Il en fut de même de la glycémie après deux mois de traitement à raison de 5.000 doses thérapeutiques par jour.

Toxicité chronique : Cette notion ne ressort pas d'expériences de laboratoire mais d'observations réalisées chez l'homme sur des patients ayant suivi des traitements de longue durée. Les accidents en question sont classés sous trois rubriques, sur lesquelles nous reviendrons plus tard. A savoir :

- stomatites catarrhales,
- hypothyroïdies,
- polynévrites.

C. — Cycle de la Thalidomine dans l'organisme

Nous verrons successivement l'absorption du médicament, sa distribution dans les divers tissus et organes et enfin son mode et ses formes d'élimination.

Absorption : Cette étude fut réalisée chez le rat à l'aide de Thalidomide radioactive au C^{14} (88).

A des rats, l'on administra par voie orale 10 mg/kg du médicament. Après 96 heures, 93,9 p. 100 du médicament furent retrouvés dans les fécès et les urines. L'importance relative de ces deux voies d'élimination sont très dissimilaires puisque pendant les seules 24 premières heures, on dosa 67,8 p. 100 de la radioactivité dans les urines contre 10,4 p. 100 dans les fécès. L'acide carbonique expiré n'a manifesté aucune radioactivité. Au bout des 96 heures, le bilan s'établit à 74,8 p. 100 pour les urines et 19,1 p. 100 pour les fécès. Ces chiffres, joints au fait que l'on a démontré l'existence d'une élimination cholédocienne non négligeable, montre le degré important d'absorption de la Thalidomide par voie intestinale.

D'autres auteurs cependant (93) utilisant la même méthode, ont publié des chiffres assez différents : 50 p. 100 dans les urines et 46,8 p. 100 dans les fécès.

Peut-être les variations de la chasse biliaire suffisent-elles à expliquer — dans une certaine mesure — la discordance régnant entre ces deux résultats ?

Distribution : Après la phase d'absorption, la Thalidomide se retrouve dans le sang. La concentration sanguine fut évaluée chez la souris, le rat, le lapin et le chien. Elle est maximale, dans la plupart des cas 2 heures après l'administration orale du médicament (88). D'autres publications cependant (108) donnent comme chiffres moyens, 30 à 60 minutes.

Après administration d'une dose de 100 mg/kg, la teneur fut chiffrée à 16 γ /ml pour la souris, à 13 γ /ml pour le rat, à 5 γ /ml pour le lapin ; et chez le chien, après administration d'une dose de 10 mg/kg, à 1,1 γ /ml.

De la même façon, on a procédé à des recherches identiques sur des personnes en bonne santé. Après absorption de 100 mg le titre sanguin fut compris, dans tous les cas, entre 0,2 et 0,9 γ /ml.(125a). Tant chez l'homme que chez l'animal, aucune trace de Thalidomide n'est retrouvée dans le sang après 24 heures.

Des résultats superposables sont obtenus par une méthode différente de dosage. Mc Grath (107) évalue la fluorescence de la molécule en l'excitant par une radiation ultra-violette dont la longueur d'onde est comprise entre 330 et 390 m μ . Par ce procédé, chez le chien, 2 heures après administration de 300 mg/kg, l'auteur note 21,5 γ /ml de sang ; 24 heures plus tard, la teneur est pratiquement nulle.

Parallèlement à ceci, la substance se distribue dans les divers tissus de l'organisme. A 10 rats, on administre 50 mg/kg de Thalidomide marquée ; 2 rats sont sacrifiés après une 1/2 heure, 1 heure et demie, 3 heures, 6 heures et 24 heures. Sur le premier couple d'animaux, la concentration s'éleva à 15 γ /ml de sang, et à 7 γ /g de tissu cérébral frais. Au bout d'une heure et demie, la radioactivité maximale est évaluée dans le foie et les reins ; à un degré moindre dans le sang et enfin viennent les muscles, le tissu adipeux et l'encéphale. En exceptant les reins et les graisses, la concentration maximale est atteinte dans les organes 3 heures après l'administration médicamenteuse.

Au bout de 24 heures, on ne trouve plus guère que 5 γ /g. Smith (119) en outre, a pu établir que dans les organes la radioactivité est due, jusqu'à la sixième heure, à la Thalidomide elle-même et non pas à ses produits de dégradation. Enfin, selon d'autres auteurs (93), la Thalidomide se répartirait de façon égale dans tous les organes.

Elimination : Il fut montré, chez le rat, que la Thalidomide en nature ne se trouvait dans les urines, qu'en très petite quantité. Le catabolite principal est la N-Phtaloyl-glutamide, qui est associée à de faibles proportions de N-Phtalyl-Glutamine et de N-Phtalyl-Isoglutamine ; l'une et l'autre sont optiquement inactives. Par des méthodes de chromatographie sur papier et de séparation des isotopes, on a pu identifier les produits ultérieurs de dégradation qui sont l'acide N-Phtalyl-Glutamique, la N-Phtaloyl-Glutamine, l'acide N-Phtaloyl-Glutamique et l'acide Phtalique. Chez l'homme et chez le chien, les divers catabolites de la Thalidomide sont identiques à ceux qui furent isolés chez le rat. Le stade ultime de cette chaîne serait représenté par un dérivé de l'acide 3-Hydroxy-Phtalique. Des investigations pharmacodynamiques précises ont montré que la N-Phtalyl-Isoglutamine est douée d'une toxicité comparable à celle de la Thalidomide, mais d'un pouvoir sédatif faible pour la souris et nul pour la rate.

Plus récemment, Williams (124) travaillant sur des urines de souris, de rats, de lapins et d'homme a isolé pas moins de quinze substances de dégradation dont douze sont identifiées. Il s'agit de :

- la N-Phtaloyl-Glutamine,
- la N-Phtaloyl-Isoglutamine,
- l'acide N-Phtaloyl-Glutamique,
- la O-Carboxybenzoyl-Glutamine,
- la O-Carboxybenzoyl-Isoglutamine,
- l'acide O-Carboxybenzoyl-Glutamique,
- la O-Carboxybenzoyl-Aminoglutarimide,
- la α -Aminoglutarimide,
- l'acide Phtalique,
- l'acide Glutamique,
- la Glutamine,
- l'Isoglutamine.

Les trois autres corps, dont la structure n'est pas connue de façon précise sont des dérivés possédant un radical Hydroxyle. Or, si en solution à pH compris entre 2 et 6, la Thalidomide est très stable, il n'en va pas de même à partir de pH 6,5 où il se produit une décomposition spontanée de la molécule. Compte tenu de ce fait l'auteur pense que bon nombre de ces dérivés ne sont pas des catabolites véritables comme on serait tenté de le croire.

D. — Thalidomide, médicament nervin

Pour caractériser le pouvoir sédatif nerveux de la Thalidomide (103), on s'est attaché à déterminer à l'activo-graphe les caractéristiques suivantes :

— La plus petite dose sédatrice : dose qui réduit de moitié l'activité des animaux d'expérience.

— La durée d'action : temps pendant lequel l'activité des animaux est réduite de moitié.

— La plus petite dose narcotique : dose minimale déterminant le décubitus latéral ou dorsal.

— La rapidité d'action : durée entre l'instant de l'administration et celui où l'activité est réduite de moitié.

— La phase d'excitation initiale : activité dépassant 125 p. 100 de la normale.

A titre de référence, il fut procédé aux mêmes déterminations avec des nervins connus à savoir :

- le bromure de sodium,
- la phényl-éthyl-malonyl-urée,
- le carbamate d'éthynyl-cyclohexyle,
- la phényl-éthyl-glutarimide,
- l'hydroxy-1, ène-2, méthyl-3, yne-4 pentane.

Ces diverses épreuves ont montré que, la Thalidomide — outre le fait qu'elle est douée de la toxicité aiguë la plus faible — possède la plus petite dose sédatrice, agit le plus rapidement pendant la durée la plus longue, ne provoque pas de phase d'excitation et n'est narcotique qu'à

de très fortes doses. Ces faits sont confirmés par Kuhn et Van Maanen (102).

D'autres auteurs (103) considèrent l'étude des réflexes de sustentation et de la coordination motrice comme moyen propre à caractériser pharmacologiquement l'activité d'un sédatif. Pour ce faire, ils réalisent l'épreuve de la baguette tournante. Une tringle de bois de 1 cm de diamètre tourne sur elle-même à raison de 10 tours/mn. On observe la durée pendant laquelle les animaux conservent leur équilibre sur ce support rotatif. Au-delà de 120 secondes, le médicament est considéré comme inactif. Cette épreuve est réalisée, comme pour l'expérience précédente avec les mêmes substances de référence.

Après administration de Thalidomide, l'équilibre des animaux n'est pas perturbé (de même qu'avec BrNa) ; il l'est par contre, de façon importante, avec les autres médications.

Les mêmes auteurs, ont expérimenté sur le chien. Pour apprécier de façon comparative les actions de ces mêmes principes actifs, ils ont été amenés à établir une échelle à six degrés correspondant aux diverses intensités d'action.

- excitation légère et ataxie,
- ataxie confirmée,
- décubitus,
- sommeil, réveil aisé,
- sommeil, réveil difficile,
- narcose, stimulus extérieur inefficace.

Les conclusions sont analogues à celles de l'expérience de la baguette tournante.

Sur intestin isolé de cobaye, on provoque un spasme par l'histamine et l'acéthyl-choline, spasme que l'on cherche à combattre par les cinq mêmes sédatifs. La Thalidomide se manifeste comme étant un antispasmodique puissant et dont l'action est la plus constante. (A cet égard, elle est cependant surpassée par la papavérine dont l'efficacité est cinq fois supérieure).

Sur le chat, on a recherché si la Thalidomide avait une incidence sur la taille et le mode de réaction de la pupille. Après administration sous-cutanée, à raison de 100 mg/kg, il ne fut noté aucune modification de cette sorte.

Le pouvoir analgésique du système nerveux central est nul même en association avec la Diméthyl-aminophénazone, la Phénacétine et la Péthidine. En effet, il ne fut noté pour ces trois analgésiques utilisés en association avec la Thalidomide, ni élévation des effets antalgiques, ni abaissement des doses antalgiques. Ces résultats ont été obtenus sur la souris, le cobaye et l'homme.

Les convulsions déterminées chez la souris par le Pentaméthylènetétrazol et chez la rate par électrochoc ne sont pas combattues par la Thalidomide — même à fortes doses.

Chez la souris, l'acide 5-allyl-5 (1 méthyl-butyl) barbiturique administré par voie orale détermine une phase typique d'excitation initiale. La Thalidomide associée à ce sédatif fait disparaître cet effet paradoxal ; de suite après l'administration de cette association médicamenteuse, l'animal tombe en préanarcose.

De la même façon, l'hyperactivité due à l'administration de caféine et de pipradol est combattue par la Thalidomide. Notons toutefois qu'il n'existe pas d'antagonisme pharmacodynamique thalidomide-amphétamine.

En revanche, la Thalidomide potentialise l'action de la chlorpromazine, du gardénal et de l'hexobarbital.

Sur le chat, enfin, la dérivation fronto-occipitale de l'E.E.G. a permis d'obtenir, avec la Thalidomide, un tracé « caractéristique d'un sédatif nerveux ».

E. — Thalidomide et termogénèse

Certains auteurs (103) ont recherché l'activité éventuelle de la Thalidomide sur le métabolisme basal. Sur la souris, des doses de 50 à 200 mg/kg sont parfaitement inactives.

A des doses plus fortes cependant, il est observé une certaine baisse du M.B., mais le phénomène n'est peut-être autre chose que l'expression de la diminution de l'activité des animaux en expérience.

Sur le lapin, on a recherché un effet antipyrétique. Un accès thermique est provoqué par l'injection I.V. d'une culture tuée de colibacilles. Même à doses relativement fortes (200 mg/kg), le médicament n'est doué d'aucune activité, tant sur l'amplitude que sur la durée du clocher thermique obtenu.

F. — Thalidomide et chimiothérapie

Des expériences ont été menées en vue de savoir si la Thalidomide possédait un pouvoir chimiothérapique propre. L'évolution de la tuberculose expérimentale et de l'infection à virus Mengo sur la souris ne fut, en rien influencée. Des investigations in vitro aboutissent à la même conclusion.

On rechercha alors si la Thalidomide potentialisait l'action des antibiotiques et des agents chimiothérapiques connus. Des souris furent inoculées au bacille de Koch et au bacille d'Aronson (*Mycobacterium Thamnopheos*) puis traitées par les associations suivantes : Thalidomide-pénicilline, Thalidomide-pénicilline-streptomycine et Thalidomide-INH. En ce qui concerne le bacille tuberculeux, le pouvoir bactériostatique de la streptomycine et de l'I.N.H. n'est pas modifié ; cependant, vis-à-vis du bacille d'Aronson, l'activité de la pénicilline et de la streptomycine serait renforcée dans une certaine mesure.

G. — Investigations diverses

Chez le chat et le chien, on n'a mis en évidence aucune incidence de la Thalidomide sur le rythme respiratoire, le

rythme cardiaque et la pression artérielle, ceci quelle que soit la voie d'administration du médicament : orale, sous-cutanée ou intra-musculaire.

Des expériences menées sur le cœur isolé de grenouille et de chat aboutirent aux mêmes résultats.

En se servant de *S. feocalis*, l'on a pu montrer que la thalidomide, à raison de 10 γ /ml, n'inhibe pas l'utilisation de l'acide folique.

De la même façon, sur des poules recevant la quantité minimale de thiamine, il fut établi que la Thalidomide n'est pas antagoniste de la vitamine B¹ (Somers). De nombreux expérimentateurs ont recherché un éventuel pouvoir cytostatique. Les résultats sont très différents suivant le matériel d'expérience. Aucune action n'a été enregistrée sur le carcinome d'Ehrlich de la souris ; de même, sur le rat, dans les intoxications expérimentales subaiguës, on ne note pas de diminution du chiffre globulaire (103).

Cependant, nous verrons ultérieurement que sur le fœtus, la Thalidomide se comporte comme un cytostatique puissant. Le fait a été vérifié histologiquement ; en effet, sur l'embryon de poulet, il se produit un ralentissement de l'activité mitotique des cellules souches des éléments figurés du sang. Au microscope on observe aux divers stades de la multiplication cellulaire, des figures de fragmentation et d'agglutination de chromosomes (123).

On a cherché enfin à mettre en évidence une inhibition par la thalidomide de tel ou tel système enzymatique. Avec la mono-aminoxydase, la glutamine-décarboxylase, la lipoxydase, la lacto-déhydrogénase, la succino-déhydrogénase (Beckmann), l'asparagine-acétylase, la glutaminase, l'asparaginase, le cytochromoxydase (Gmelin), la glutamate-oxalate-transaminase et la glucose-6-phosphate déhydrogénase (Green), les résultats furent tous négatifs.

II. — Etude clinique

Toutes ces expérimentations de laboratoire, et en particulier les recherches princeps de Kuns, Keller et Mückter (103) semblaient indiquer que l'on se trouvait en présence d'une molécule douée d'une activité thérapeutique intéressante, dénuée de tout effet secondaire, ne s'accumulant pas dans l'organisme et quasiment atoxique ; bref, le médicament idéal. En outre on connaissait depuis longtemps des molécules de structure très voisine qui avaient fait leurs preuves en thérapeutique, telles que le glutéthimide (Éthyl-3, phényl-3, dioxo 2-6, pipéridine) et le bémégride (méthyl-4, éthyl-4, dioxo 2-6, pipéridine (112) ; tout portait donc à croire que la thalidomide devait ne pas réserver de surprises au clinicien. Et s'il fallait encore dissiper quelques appréhensions, le rapport de Jung devait le faire.

A. — Succès thérapeutiques

Jung (100) publie les résultats de ses premiers essais thérapeutiques portant sur trois cents malades.

Aucun effet secondaire, n'est à redouter à doses normales. S'il apparaît quelques manifestations d'intolérance — vertiges, troubles intestinaux — lesquels sont extrêmement rares, elles sont imputables à un surdosage. Il importe donc d'adapter la posologie à chaque patient.

La Thalidomide, en particulier, est douée d'effets favorables sur l'asthme bronchique, d'effets très satisfaisants sur les troubles gastriques d'origine nerveuse, et excellents sur les dystonies végétatives en général, les insomnies et certaines hypertensions.

Précisons dès maintenant que Jung insiste sur la puissante efficacité sur les syndromes hyperthyroïdiens. Nous aurons à revenir sur ce fait.

L'auteur enfin, n'a observé en aucun cas de sidération hépatique et des organes du système hématopoïétique, il conclut : « La Thalidomide est un sédatif remarquable... nous le jugeons digne d'être utilisé ».

Aussi ne manqua-t-on pas de le faire largement en Allemagne Fédérale d'abord, puis en Grande-Bretagne, au Canada, en Belgique, au Japon, à Ceylan, aux Philippines, en Australie, en Suède, en Israël, au Pérou. etc... Ce médicament fut commercialisé soit seul (Contergan N.D., Distaval N.D., K 17 N.D., Softenon N.D.) comme sédatif nerveux (Sedalis N.D., Neurosedyne N.D.) au compte de personnes présentant des insomnies rebelles (Sanodormin N.D., Sleepan N.D.), soit associé à d'autres principes actifs relevant d'indications thérapeutiques diverses (Grippex N.D., Polygrippan N.D., Valgraine N.D.) (109). Les résultats très encourageants obtenus par les médecins ne firent qu'accroître très rapidement l'utilisation de cette drogue. Or, peu à peu les cliniciens observèrent divers accidents plus ou moins sévères imputables à l'usage, trop souvent inconsidéré, de cette médication.

B. — Accidents thérapeutiques (Rédaction en collaboration avec Favre-Tissot)

Stomatites catarrhales : Robertson (114) rapporte des troubles de ce genre au terme d'une enquête portant sur deux cents patients. Sur le quart des malades environ, se développe, après quelques jours de traitement, une stomatite catarrhale avec desquamation rapide de la muqueuse buccale et éventuellement de la muqueuse laryngée. Dans quelques cas, se surajoutent des accidents hémorragiques. Ces phénomènes n'apparaissent qu'après absorption de doses anormalement élevées de Thalidomide. En outre, ce tableau clinique ressemblant d'assez près à ceux que l'on observe dans les hypovitaminoses du groupe B, l'auteur

eût l'idée d'associer ces vitamines au traitement à la Thalidomide : les accidents précités disparaissent aussitôt. Dès lors, l'administration systématique, à titre préventif, de ces mêmes vitamines empêcha l'apparition de ces manifestations muqueuses.

Hypothyroïdies. Peut-être celles-ci étaient-elles prévisibles après connaissance de l'expertise de Jung et la mise en garde de Murdoch et Campbell (111). Elles n'apparaissent pas isolées, mais toujours en association avec certains troubles neurologiques et psychopathiques décrits ci-après.

Après deux mois environ de traitement à raison de 100 mg par jour, on assiste à l'évolution d'une hypothyroïdie typique avec troubles de la peau et des phanères, modification du timbre de la voix, hyperesthésie au froid, bradypsychie et crétinisme. Les examens paracliniques confirment le diagnostic. Ces troubles sont corrigés par l'usage d'extraits thyroïdiens, ou mieux, par l'arrêt de la Thalidomide (104). Le pouls et la pression artérielle retrouvent leurs caractéristiques physiologiques, disparition du microvoltage à l'E.E.G., l'épreuve au radio-iode montre qu'il y a restitution de l'intégrité fonctionnelle de la thyroïde, la tendance anémique relevée à la numération globulaire se corrige, le cholestérol sanguin retrouve sa valeur normale. L'examen radiologique enfin, montre une régularisation de l'ombre cardiaque et la disparition d'une éventuelle image intrathoracique (86). Contrairement à l'opinion hâtive de certains (96), les effets de la Thalidomide sur la thyroïde de l'homme ne sont pas négligeables.

Polynévrites. A côté des troubles nerveux bénins et transitoires susceptibles d'apparaître dès les premiers jours du traitement, d'autres manifestations d'une toute autre gravité ont été observées par de nombreux auteurs (90) (91) (99). Ces accidents apparaissent chez des patients faisant l'objet de traitements prolongés (97). Les premiers symptômes peuvent s'installer de façon très progressive

entre le deuxième et le dix-huitième mois. L'âge du malade n'a aucune influence ; mais il semble par contre que la susceptibilité individuelle joue, à cet égard, un rôle déterminant. Tel patient prenant quotidiennement 50 mg. de Thalidomide présentera les premiers troubles dès le deuxième mois, alors que tel autre, prenant 400 mg et plus, ne consultera son médecin traitant qu'au dix-huitième mois.

Les premiers troubles consistent le plus souvent en paresthésies et engourdissement, à des degrés variables, des extrémités des membres inférieurs ; quelques semaines plus tard, les mêmes manifestations s'installent aux membres supérieurs (95). Parfois, c'est l'inverse, les membres supérieurs sont intéressés d'abord (98). En d'autres cas, le patient présente une incoordination des mouvements fins, accompagnée de fourmillements, mettant en jeu les articulations distales (telle personne se plaint de ne plus pouvoir jouer du piano) (116). Au fur et à mesure que ces symptômes irradient jusqu'à atteindre les articulations proximales réalisant un tableau clinique de paralysie motrice avec anesthésie cutanée, des faits nouveaux apparaissent. Au niveau des avant-bras et surtout des jambes, des crampes musculaires se manifestent ou au contraire un certain degré d'atonie alors que des plages cutanées de forme et d'étendue variables restent totalement anesthésiées. A ce stade, le patient éprouve de plus en plus de difficultés à monter les escaliers, puis même à se déplacer normalement ; la démarche mal assurée devient ébrieuse puis nettement ataxique. Peu à peu, des troubles trophiques secondaires s'installent : œdème du pied et du cou de pied, érythème palmaire, les ongles deviennent fragiles et se cassent.

Les réflexes médullaires sont très perturbés : diminution sinon abolition des réflexes rotulien et achilléen, voire même apparition d'un signe de Babinski (95), mais le LCR est normal avec parfois tout au plus tendance discrète à l'albuminorachie (113).

Sur les nerfs médian et sciatique poplité externe, on a mesuré la vitesse de conduction nerveuse : il y a dissociation sensitivo-motrice avec le plus souvent prédominance sensitive (118) ; les biopsies effectuées sur les muscles tibial antérieur et quadriceps montrent les lésions dégénératives typiques de l'énervation musculaire.

Outre cette symptomatologie classique, certains auteurs ont rencontré des troubles mineurs, peu fréquents, souvent d'origine centrale. Ce sont les lipothymies, des états nauséux, des troubles cyclothymiques et une amnésie de fixation (86). En dernier lieu, un cas de myocardite fut observé, associé à quelques signes hépatiques (116) ; enfin, un auteur, sans oser affirmer qu'il s'agisse là d'un lien de cause à effet, signale le cas d'une femme de 35 ans dont le cycle ovarien fut suspendu lors de l'instauration du traitement à la Thalidomide ; en outre, l'examen de sa courbe de température permettait de supposer l'absence d'ovulation (98).

Quant au pronostic de ces désordres neurologiques, les auteurs sont unanimes et formels (118) : toute amélioration sera lente et d'autant plus hypothétique que les accidents sont anciens.

Accidents tératologiques : Ce sont eux surtout qui, comme on le sait, ont rendu la Thalidomide tristement célèbre et qui ont motivé son retrait du commerce.

Fort heureusement, la France a été tenue à l'écart de cette vague de malformations responsable de plusieurs milliers de victimes hors de nos frontières. Fin 1962 cependant, le cas d'une fille phocomèle, née de parents français fut publiée par deux médecins militaires, Farizon et Masbernard, dans une de nos revues médicales (94). Il s'agissait de l'enfant d'un sous-officier stationnant en Allemagne Fédérale dont la femme était traitée par un médecin allemand. Nous croyons savoir que, dans des circonstances identiques, deux autres cas analogues ont été observés ultérieurement.

Les enfants en question sont de poids très variable : de 3,5 kg (110) à 1,6 kg (125). Les anomalies provoquées portent essentiellement sur les organes issus du mésenchyme (106). Certaines sont pratiquement constantes, d'autres sont occasionnelles.

Les plus fréquentes et les plus apparentes portent sur les membres supérieurs qui sont réduits à l'état de moignons porteurs de mains elles-mêmes mal formées ; le nombre des doigts est réduit à 4 en raison de l'absence de pouce, voire à 3. La radiographie met souvent en évidence un raccourcissement du segment huméral avec agénésie du segment radio-cubital ; les membres inférieurs sont porteurs d'anomalies analogues ; raccourcissement du segment fémoral, absence de jambe, le nombre des orteils est réduit dans les mêmes proportions. Les articulations de l'épaule, du coude, de la hanche et du genou comme celles du poignet et de la cheville s'orientent de façon désordonnée, les composants osseux prennent entre eux des rapports aberrants. Les moignons des membres supérieurs seront repliés sur eux-mêmes comme des ailes d'oiseaux, tandis que la direction générale des membres inférieurs sera perpendiculaire au rachis ; ou inversement. Ces malformations se présentent souvent de façon asymétrique et assez indépendante : certains sujets présenteront des bras très réduits alors que les jambes semblent n'être que peu frappées, chez certains autres, l'inverse sera observé. La phocomélie poussé à son stade ultime réalise l'amélie complète (117). Associée à celle-ci, on observe très souvent une tache hémangiomateuse, d'étendue variable, siégeant sur la face, intéressant la lèvre supérieure, le nez et une partie du front.

Outre ces malformations, les auteurs observent parfois d'autres anomalies externes qui sont des agénésies du pavillon auriculaire (115), des syndactylies, des doigts bifides, des pieds en varus équin (94). Un nombre relativement faible d'enfants a fait l'objet d'autopsies détaillées, mais il suffit cependant pour se faire une idée de la diver-

sité et de la gravité des anomalies viscérales engendrées par la Thalidomide.

L'appareil digestif est, de loin, le plus fréquemment atteint : fissurations palatines (94), atrésie de l'œsophage (105), dilatation de l'estomac (110), sténoses duodéno-jéjunales (92), atrésie ou absence de l'appendice (120) de l'anوس, absence de vésicule biliaire (101). L'appareil respiratoire, par contre, est normal dans la plupart des cas ; cependant une absence de cloison nasale a été signalée (94) ainsi qu'un défaut de l'hémidiaphragme gauche (120).

Le muscle cardiaque peut présenter une déficience du septum interventriculaire (115) ou être simplement dilaté.

Les reins sont fréquemment le siège de malformations : absence de bassinet (94), hydronéphrose (101), agénésie unilatérale complète avec compensation de l'organe symétrique (120) ; voire, agénésie bilatérale (105).

Certains enfants présentent de la cryptorchidie (101), d'autres ne possèdent qu'une seule trompe utérine (120).

Les os du crâne sont de consistance normale, mais peuvent présenter une coloration bleuâtre (110), l'os pétreux peut être anormalement perméable aux rayons X (115), au surplus, on a pu observer une agénésie asymétrique du sacrum et deux fistules rachidiennes sacrées (101).

Le système nerveux semble être respecté dans tous les cas ; un auteur, cependant signale une intense congestion cérébrale (110) ; un autre, une hémiplegie faciale gauche (115).

Quant aux organes des sens, enfin, ils ne sont pas épargnés ; microphthalmie (101), absence de cochlée et de canaux semi-circulaires (115).

Selon la sévérité des malformations dont ils sont porteurs, la mort de ces nourrissons est plus ou moins différée. Quelques-uns d'entre eux se développent normalement, mais 50 p. 100 meurent en quelques jours, et même en quelques heures.

CHAPITRE IV

EMBRYOPATHIES A LA THALIDOMIDE

A) Thalidomide, substance tératogène chez l'homme

I. — Historique

Les faits sont bien connus aujourd'hui, aussi nous bornerons-nous à rappeler les étapes essentielles et à citer les publications primordiales.

Dès 1960, les médecins allemands observèrent une élévation de la fréquence des anomalies congénitales. En octobre, Korsenow et Pfeiffer présentent à la Société Allemande de Pédiatrie une communication intitulée « Micro-mélie, hémangiome et sténose duodénale » (152). En septembre 1961, Wiedmann (189) rapporte 33 observations d'enfants malformés où prédomine la phocomélie. On parle dès lors de « Syndrome de Wiedmann ». Ces anomalies sont toutes survenues au cours des dix derniers mois ; par contre, dans le même service, de 1953 à 1957, l'auteur n'a observé qu'un cas de phocomélie et une hypoplasie de la main et de l'avant-bras. Il n'y a donc pas là coïncidence.

Pendant ce temps, des enquêtes cherchant à élucider l'étiologie de cette épidémie de phocomélies aboutissent aux conclusions suivantes :

— les deux sexes sont affectés, il ne s'agit pas de malformations héréditaires, pas plus que de mutations génétiques (153) (185) ;

— l'âge des parents et le rang de naissance des enfants n'interviennent pas ;

— anoxies, infections virales, radiations, déséquilibres alimentaires, anticonceptionnels, traitements hormonaux sont hors de cause ;

— seul élément positif : l'agent tératogène s'est manifesté à partir de début 1959.

Le 18 novembre 1961, Lenz (154) à la réunion des pédiatres de Westphalie, émet l'hypothèse de la responsabilité de la Thalidomide.

Le 26 novembre, la firme Grünenthal retire le produit du commerce en Allemagne.

Le 9 décembre 1961, Mc Bride (158), en Australie, est frappé par le nombre des malformations des enfants dont les mères ont pris de la Thalidomide. Il en fait part en quelques lignes dans le journal « The Lancet ». Dès le 2 décembre, le produit était retiré de la vente en Grande-Bretagne.

Dès lors, les publications se multiplient (175) (187) (145) (148) et l'affaire est entendue. Mais cette épidémie a revêtu l'allure d'un cataclisme ; Taussig (182) parle d'une « explosion de phocomélies » ; Woolam (191), « d'une expérimentation chez une espèce mammifère » ; Hepp (144), de « situation catastrophique » et de « désastre national ».

Mais les chiffres parlent d'eux-mêmes (182) : Voici la statistique traduisant la progression du phénomène dans quatre villes d'Allemagne Fédérale en 1959, 1960 et 1961.

	1959	1960	1961
Bonn	2	19	50
Munich	2	14	44
Munster	3	27	96
Hambourg	2	46	211

En effet, tout semble avoir favorisé l'extension de cette catastrophe :

La Thalidomide était un médicament nouveau, doué d'une toxicité aiguë extrêmement faible, réputé dépourvu

d'effets secondaires, administré par voie orale et obtenu en pharmacie sans prescription médicale. Ses propriétés sédatives et antiémétisantes ont justifié son indication thérapeutique en début de grossesse — soit précisément la période où le fœtus est au maximum de sa possibilité, et sa posologie s'est avérée voisine de la dose tératogène optimale.

Enfin, son adjonction à de nombreuses associations médicamenteuses n'a fait qu'accroître son utilisation à des fins très diverses.

Quel fut le nombre des victimes ? Il n'a pas été publié de bilan global définitif, mais, compte tenu du nombre et de la population des pays où la Thalidomide avait droit de cité, de la durée pendant laquelle elle a sévi et de l'accroissement sans cesse grandissant de son emploi au cours des années 1959, 1960 et 1961, il semble qu'un chiffre de 8 à 10.000 soit assez proche de la réalité. Mais la Grande-Bretagne et surtout l'Allemagne Fédérale sont, de beaucoup, les pays les plus éprouvés.

II. — Modalités d'apparition des malformations

La posologie de base de la Thalidomide est considérée comme voisine de 1 à 2 mg/kg, mais c'est là une limite inférieure et, en raison de la grande tolérance de ce médicament, des patients ont absorbé des doses allant jusqu'à 400 mg par jour.

De nombreuses observations de femmes ayant pris pendant la quasi totalité de leur gestation de fortes doses et ayant mis au monde des nouveau-nés difformes sont rapportées dans la littérature (173) (136). Mais ces cas ne sont pas les plus intéressants, d'autres nous retiendront davantage.

Rosental (168) fait état d'une femme de 24 ans qui prit de fortes doses pendant 25 jours seulement. L'enfant présentait diverses malformations dont une déficience inter-

ventriculaire, une dysplasie des pavillons auriculaires avec agénésie de la cochlée et des canaux semi-circulaires. Or ce traitement s'échelonnait sur le deuxième mois de la grossesse.

Stewart (181) publie le cas d'une femme de 29 ans ayant, pendant sa grossesse, suivi un traitement prolongé à faible dose (25 mg/jour). Elle donna naissance à une fille mal constituée ; entre autres dysplasies : raccourcissement des deux avant-bras, absence des deux péronés, tétradactylie, déficience interventriculaire.

Ferguson (134) cite le cas d'un nouveau-né phocomèle des quatre membres, présentant un angiome plan de la face. Sa mère avait pris de la Thalidomide à dose moyenne pendant cinq jours seulement ; trois jours à raison de 100 mg. et deux jours à raison de 50 mg. Or, ces cinq jours se trouvaient à la fin du 1^{er} mois.

Mais l'observation la plus intéressante est due à Kajii (101). Une femme a pris de la Thalidomide pendant 9 jours seulement et à raison de 30 mg/jour, soit approximativement 0,5 mg/kg. Le nouveau-né fut porteur d'anomalies multiples et graves dont il mourut au bout de 7 jours.

A ce sujet, les différents enquêteurs se sont proposés d'évaluer le risque tératogène. Mais attendu qu'il ne fut pas fait de distinction entre l'usage précoce et l'usage tardif de la Thalidomide, les chiffres avancés ne signifient rien, aussi sont-ils très discordants, allant de 2 p. 100 (129) à 50 p. 100 (188). Mais il est vraisemblable que le pourcentage serait fort élevé si l'on excluait de la statistique les femmes ayant pris le médicament au-delà du 3^e mois.

Ces quelques exemples cependant illustrent à l'évidence deux points essentiels de la tératologie générale :

— le pouvoir tératogène de la Thalidomide est sensiblement le même que la molécule intervienne tout au long de la gestation ou qu'elle le fasse seulement pendant une durée très brève à condition que celle-ci se trouve

dans les deux premiers mois. C'est la notion de phase de sensibilité fœtale ;

— les doses faibles ne sont pas moins nocives au développement embryonnaire que les doses fortes. C'est la notion de légèreté de la stimulation tératogène.

Pour être complet, mentionnons, sous toute réserve, une observation de Jacobs (146). Le mari a pris de la Thalidomide et sa femme — tout en affirmant ne jamais avoir utilisé de cette drogue — mit au monde un enfant phocomèle.

Avant de quitter définitivement l'espèce humaine, signalons enfin l'effet favorable de la Thalidomide sur l'évolution d'un cancer ; effet lié sans doute à son caractère histotoxique. Un auteur Israëlien (166) publie à ce propos une observation intéressante. Une femme de 70 ans était atteinte d'un fibro-myxosarcome récidivant dûment identifié par biopsie et évoluant depuis 7 ans avec métastases abdominales et pulmonaires. La patiente avait déjà fait l'objet de deux interventions chirurgicales. En dernier recours, un traitement à la Thalidomide fut mis en œuvre ; il fit l'effet d'une « baguette magique ». En l'espace de deux mois, le médecin aurait observé la guérison clinique de la malade. Nous croyons savoir qu'actuellement des études se poursuivent dans ce sens, mais semblent décevantes.

B) Thalidomide, substance tératogène chez l'animal

De nombreuses expérimentations animales furent menées dans tous les pays en vue de reproduire — hélas a posteriori — les malformations observées chez l'homme. Les essais ont tout d'abord un intérêt spéculatif : ils visent à élucider le déterminisme intime de ces malformations ; en second lieu, ils se proposent de mettre en évidence un

antidote pharmacodynamique de cette drogue en inhibant l'apparition des embryopathies.

I. — Thalidomide et barrière placentaire

Beckmann envisage d'apprécier la perméabilité du placenta à la Thalidomide chez la souris et chez la rate. Pour ce faire, il utilise des molécules marquées au C^{14} .

Après 18 jours de gestation, il administre aux animaux par voie orale une dose de 20 mg/kg. Deux heures plus tard, il évalue la radioactivité des fœtus, des liquides annexiels ainsi que du tissu musculaire et du sang maternel. Les résultats sont concordants dans les deux espèces : le titre du médicament dans les fœtus est comparable à celui du tissu musculaire de la mère ; celui du liquide annexiel l'est à celui du sang maternel.

La perméabilité du placenta à la Thalidomide est donc excellente (chez la souris et chez la rate).

II. — Tératogénèse expérimentale

Les expériences ont porté sur :

- la mouche *Drosophile*,
- la grenouille,
- l'œuf de poule embryonné,
- la souris,
- la rate,
- le hamster,
- la lapine,
- la chatte,
- la truie,
- la guenon Rhesus.

ainsi que sur une algue rhodophycée (*Callithamnion tetrum*).

a) *la Drosophile* : Des larves de *D. melanogaster* sont élevées dans un milieu nutritif contenant 0,1 p. 100 de

Thalidomide. Sur 30 p. 100 des insectes, on note soit de la débilité, soit un développement incomplet des pattes, soit des anomalies dans la répartition de la mélanine (164). Des mouches adultes furent nourries pendant 3 jours consécutifs à l'aide d'une préparation comportant 0,5 p. 100 de Thalidomide. Il ne fut constaté aucune altération des spermatozoïdes et de la spermatogénèse (156).

b) *la grenouille* : La Thalidomide, à raison de 50 mg/ml n'a aucune influence sur les métamorphoses du têtard (177).

c) *l'œuf de poule embryonné* : Les doses tératogènes optimales sont comprises entre 0,1 et 2 mg. par œuf ; les doses plus élevées — de 2,5 à 10 mg par œuf — provoquent l'arrêt du développement du germe dans des proportions de 50 à 100 p. 100.

Dans ces conditions, les anomalies enregistrées intéressent essentiellement les yeux et le squelette (crâne, membres, bec). Ce sont des anophtalmies, des microptalmies (132), des cyclopies (128) ; des encéphalies (192), des exencéphalies (149) ; des micromélies (170), des amélies et des oligodactylies (192) ; des anomalies diverses des maxillaires dont de la brachygnathie supérieure (130). En outre, des œdèmes (128) et des malformations viscérales (132) furent notées. Mais parfois, certaines de ces anomalies apparurent également chez les témoins (177) (184).

La date de l'inoculation n'est pas sans importance. Pour les fortes doses, la tolérance de l'œuf est, à posologie égale, très différente au 6^e jour de ce qu'elle est avant incubation (149) ; pour les faibles doses, le même phénomène est observé : des amélies et des oligodactylies sont déterminées par des injections effectuées à la 48^e heure ; ces malformations ne se retrouvent pas quand la substance est inoculée à la 72^e heure (192).

Dans les mêmes conditions expérimentales, un antidote de la vitamine B⁶, la 4-désoxypyridoxine, engendre des anomalies ressemblant d'assez près à celles que l'on observe avec la Thalidomide ; pourtant l'association Thalidomide-

Pyridoxine ne permet pas de mettre parfaitement en évidence un éventuel antagonisme entre les deux molécules (150).

Certains catabolites de la Thalidomide sont responsables des mêmes malformations que leur substance-mère (128).

Toutes ces anomalies sont-elles étroitement spécifiques de la Thalidomide ? Il est permis d'en douter. En effet, Williamson et coll. injectant à des œufs 1 à 2 mg de Thalidomide entre le 3^e et le 6^e jour, observent des encéphalocèles, des anophtalmies et des atrésies palpébrales ; autant de malformations qui n'apparaissent pas chez les témoins qui ont reçu du sérum salé. Or les mêmes malformations sont déterminées par l'inoculation de diverses substances qui, comme la Thalidomide, sont insolubles, à savoir : du sable, de la limaille de verre, de l'aluminium colloïdal et du silicate double de Mg et l'Al (190).

Pour en terminer avec l'expérimentation sur l'œuf, mentionnons les observations faites avec l'association Thalidomide-Dioxane (186). Verrette et Mc Laughlin inoculent de la Thalidomide à des œufs. 80 p. 100 de ceux-ci donnent naissance à des poussins normaux, tandis que parmi les 20 p. 100 de mortalité en coquille, quelques malformations bénignes sont notées ; le Dioxane, quant à lui, n'engendre aucune perturbation du développement. Par contre, l'association Thalidomide-Dioxane induit l'éclosion de malformations en grand nombre. Faut-il en déduire que l'on est en présence d'une potentialité de la Thalidomide par le Dioxane ? S'agit-il là d'un phénomène spécifique ? Peut-être que non, car des résultats superposables sont obtenus, semble-t-il avec l'association Thalidomide-Riboflavine (cf. *infra*).

d) *la souris* : Avec la souris, nous abordons l'expérimentation portant sur les animaux placentaires. En ce qui concerne l'œuf, abstraction étant faite de quelques publications relativement rares, la plupart des auteurs s'accordent au sujet du pouvoir tératogène — spécifique ou non —

de la Thalidomide ; mais comme nous allons le voir, il n'en va pas de même, loin de là, dès l'instant où le matériel expérimental est un mammifère. Sans doute, la physiologie de la gestation, avec ses complexes phénomènes de régulation, n'est-elle pas étrangère à l'hétérogénéité des résultats publiés en ce domaine.

Maintes publications font état d'expérimentations sur la souris, dont les résultats furent entièrement négatifs. Les femelles gestantes recevaient soit par voie orale, soit par voie parentérale (174) (135), tantôt à partir de la conception (176), tantôt dès 10 jours avant la fécondation (135), de la Thalidomide à des doses quotidiennes comprises entre 100 (161) et 400 mg/kg (176). Ces auteurs ne constatèrent ni résorptions fœtales, ni avortements, ni prématurités, ni anomalies du développement embryonnaire et post-natal.

D'autres expérimentateurs, par contre, purent mettre en évidence des pourcentages de mortalité embryonnaire variant avec la posologie et la durée du traitement. Selon Mauss et Stumpe, les portées de souriceaux ne subissent aucune diminution jusqu'à 200 mg/kg, puis s'amenuisent progressivement à mesure que la dose s'élève de 200 à 400 mg/kg ; au-delà de cette dernière posologie, le pourcentage reste alors stable (157). Selon Giroud et coll. (137), des souris gestantes recevant de 125 à 500 mg/kg résorbent totalement dans 40 p 100 des cas quand le traitement s'échelonne du 6^e au 14^e jour de gestation, et dans 90 p. 100 des cas quand celui-ci est mis en œuvre du 1^{er} au 14^e jour. En contradiction partielle avec ces observations, Hagen obtient avec la souche Strong A, 50 p. 100 de résorptions embryonnaires dès la dose quotidienne de 5 mg/kg ; dans les mêmes conditions cependant, avec la souche Black C-57, il n'obtient aucune mortalité in utero (141).

Quelques auteurs enfin, peu nombreux d'ailleurs, purent mettre en lumière dans cette espèce, les propriétés tératogènes proprement dites de la Thalidomide. Dipaolo et coll. administrent à des souris gestantes des doses de 31

et 62 mg/kg pendant 4 ou 5 jours consécutifs compris entre le 2^e et le 10^e jour. Outre des résorptions, ces expérimentateurs observent diverses anomalies telles que : pieds-bots, absence de clavicule, hydrocéphalie... Ils montrent également que dans cette espèce, la période de sensibilité maximale des fœtus à la Thalidomide se situe les 6^e, 7^e et 8^e jours de la gestation (147). Enfin et surtout, Giroud et coll., les premiers à avoir reproduit des embryopathies à la Thalidomide sur des animaux de laboratoire, observent chez 5 p. 100 des fœtus issus de femelles ayant reçu 250 mg/kg, et chez 10,5 p. 100 de ceux nés de souris ayant reçu 500 mg/kg, les anomalies suivantes : becs-de-lièvres, fissurations palatines, hypoplasie des paupières, torsion de la queue, cataractes, différentes altérations du squelette axial et un cas de craniorachischisis (137) (138) (139) (140).

Runner a également enregistré des anomalies portant sur 22 p. 100 des nouveau-nés, mais ceci seulement lorsque les femelles ont respecté un jeûne complet de 24 heures le 9^e jour de la gestation (169). Mais le même auteur a pu montrer, en 1954, que, dans ces conditions, des anomalies se manifestaient en l'absence de Thalidomide (75). Les malformations ainsi obtenues sont donc dénuées de toute signification !

e) *la rate* : Les doses de Thalidomide utilisées s'échelonnent entre 0,1 (143) et 5.000 mg/kg et par jour, mais la plupart des expérimentateurs ont travaillé à posologies moyennes comprises entre 100 et 500 mg/kg. Le médicament est administré par la bouche ou par voie parentérale (131) (162). Le pouvoir embryotoxique de la Thalidomide se traduit généralement dans cette espèce par de la mortalité « in utero » ; les auteurs sont unanimes à ce sujet encore que la dose embryoléthale minima soit mal précisée : selon certaines publications, une diminution appréciable de la fertilité des femelles traitées se ferait sentir à partir de 200 mg/kg, alors que d'autres signalent des

resorptions dès 2 mg/kg (142). Rappelons à ce propos qu'intervient certainement de façon déterminante l'époque de la gestation à laquelle la drogue est administrée.

En ce qui concerne les malformations vraies, les opinions sont partagées. Diverses anomalies ont été signalées sur un nombre très restreint d'animaux (162) (126) dont une hydrocéphalie (142). Ces altérations somatiques sont peut-être imputables à la Thalidomide, mais du fait de leur petit nombre, elles ne sont aucunement significatives. Par ailleurs, sur un lot de 520 fœtus, furent dénombrés 76 sujets tarés présentant des fissures palatines, du nanisme et des orientations aberrantes des membres postérieurs (151), tandis qu'une dernière observation rapporte des soudures intercostales et des malformations vertébrales et sternales (159), mais il importe de spécifier que dans ce dernier cas, ces mêmes accidents sont survenus également avec d'autres molécules expertisées simultanément.

Mais il ne fut pas donné aux autres expérimentateurs de mettre en évidence la moindre dysplasie somatique sur le raton, et ceci quelles qu'aient été les doses appliquées et les souches d'animaux utilisés (163) (179) (143) (165) (131) (176) (174) (133).

Giroud et coll. eux-mêmes, qui travaillèrent pourtant sur trois souches différentes de rates, ne purent enregistrer que des résorptions et une diminution du poids des nouveau-nés par rapport aux témoins (137) (138) (139).

f) *le hamster* : Aucune malformation ne fut notée dans cette espèce jusqu'à des doses de 8.000 mg/kg ; et ce, malgré un pourcentage faible de résorptions embryonnaires (Somers).

g) *la lapine* : Dans cette espèce, les résultats sont assez homogènes. En effet, si quelques expérimentateurs ne purent mettre en évidence aucune malformation (180) (183), de nombreux autres furent plus heureux dans leurs investigations.

Ces derniers respectent des protocoles très voisins : les doses quotidiennes sont, pour la plupart, comprises entre 50 et 250 mg/kg et administrées, en général, entre le 6^e et le 16^e jour de la gestation. Dans ces conditions, certaines malformations portent sur le squelette : raccourcissements ou déformations des divers segments osseux des membres thoraciques et pelviens (133) (167) (176), altérations des extrémités : pieds-bots et pieds-varus (178) (167), incurvations du rachis (140) ; d'autres intéressent le système nerveux central : hydrocéphalies (133), encéphalocèles (139) et anencéphalies (137) (138).

Soulignons une dernière fois l'importance du choix de la souche des animaux d'expérience : Seller travaillant dans les mêmes conditions à la fois sur la souche « blanche de Nouvelle-Zélande » et la souche « Silbergrau » observe des résultats contradictoires. Avec la première, il observa des anomalies des membres antérieurs qui ne se retrouvèrent pas avec la seconde (174).

h) *la chatte* : Six chattes prirent quotidiennement 500 mg/kg. La plupart des nouveau-nés étaient morts. Deux malformations furent notées : un pied-varus et une légère anomalie de l'oreille externe (177).

i) *la truie* : Pendant toute la durée de leur gestation, des truies reçurent journellement 20 puis 10 mg de Thalidomide par kg. Sur plus de 350 porcelets mis au monde, l'un d'eux présenta une malformation du rachis (160) ; une autre publication fait état d'une atrésie anale (180). Mais qui connaît la pathologie du porc sait combien sont fréquentes dans cette espèce les anomalies spontanées du rachis et plus encore du tube digestif !

j) *la guenon* : Quarante-quatre guenons Rhésus prirent quotidiennement, pendant les 45 premiers jours de leur gestation, soit 50, soit 200 mg de Thalidomide. Aucune naissance ne survint dans ce lot d'animaux traités, alors qu'un lot de 57 témoins donna le jour à 11 sujets (155).

k) *expérimentation portant sur une plante* : Des spores d'une Rhodophycée marine furent cultivées dans des milieux contenant entre 0,01 et 0,6 mg. de Thalidomide par litre. L'expérimentateur constata des anomalies morphologiques du thalle des algues issues des spores ayant subi les plus fortes concentrations du médicament (127).

DISCUSSION ET CONCLUSIONS.

Toutes ces observations sont dignes d'intérêt, mais nous ne nous attarderons cependant pas sur les expériences portant sur la *Drosophila* et sur la grenouille.

Les résultats acquis sur l'œuf embryonné paraissent positifs à n'en pas douter, mais encore faut-il faire, de façon rigoureuse, la part qui revient respectivement au traumatisme de l'inoculation, et à la Thalidomide elle-même, soit en tant que corps étranger banal, soit comme molécule embryotoxique vraie. De toute façon, on est bien loin, dans cette espèce, de la physiologie de la gestation.

Le hamster et la truie ont fourni matière à expérimentations non décisives, bien que dans le second cas, le nombre des fœtus examinés soit plus que satisfaisant. Dans ces deux espèces, les résultats ne sont ni négatifs, ni positifs, mais tout simplement non significatifs.

La chatte permet de soulever une certaine suspicion, mais cette observation mériterait d'être poursuivie. Il en va de même chez la guenon où cependant l'ampleur de l'expérimentation engendre un résultat plus qu'éloquent. Mais, hélas, le protocole peu judicieux, semble-t-il, n'a fait qu'induire des mortalités précoces.

Il en va tout autrement pour les publications relatives à la souris, la rate et la lapine, chez la rate, bien que certains auteurs, rares à la vérité, aient noté l'éclosion d'anomalies congénitales, on s'accorde à admettre que dans cette espèce, la Thalidomide n'est pas responsable

de malformations vraies. C'est, du moins, l'opinion d'expérimentateurs éminents.

Chez la souris et la lapine par contre, les anomalies enregistrées, quand elles apparaissent, intéressent toujours les mêmes organes et sont à peu près identiques lors des différentes expérimentations quel que soit le protocole suivi. Celles-ci sont considérées comme spécifiques.

Insistons enfin sur l'importance du choix des animaux réactifs. Embryopathies sur une espèce ne signifie pas fatalement embryopathies sur les autres ; mieux même, à l'intérieur d'une espèce donnée, les résultats ne sont pas identiques selon les souches ; nous avons vu que cette notion est parfaitement évidente chez la lapine comme chez la souris. On sent alors tout le poids de l'opinion — encore trop restrictive peut-être — de Giroud, qui souligne « combien il est important, dans certains cas, d'étendre les investigations à plusieurs espèces ».

Expérimentation personnelle

Nous avons travaillé sur trois espèces : l'œuf embryonné, la rate et la chienne ; tantôt avec la Thalidomide seule, tantôt avec les associations Thalidomide-Bleu de Trypan et Thalidomide-Riboflavine.

A. — Thalidomide seule (a)

I. — *Expérimentation portant sur l'œuf embryonné.*

Nous utilisons des œufs à coquille claire provenant d'un élevage de poules de race Bresse Blanche dont le taux de malformations spontanées, évalué sur les 5 dernières années, est parfaitement connu et s'élève à 12 p. 1.000.

Une fois collectés, les œufs sont gardés 24 heures à la température du laboratoire. A la mireuse, la marge de la chambre à air est repérée et matérialisée d'un trait au crayon sur la coquille de l'œuf. A la fraise de dentiste, est pratiqué dans la coquille un petit pertuis respectant la membrane coquillière. Cet orifice est situé en un point équidistant de l'« équateur » et de la marge de la chambre à air. A l'aide d'une seringue à Insuline armée d'une aiguille 15-4/10 à biseau court, on injecte aseptiquement dans l'albumen, en dirigeant l'aiguille obliquement, 1,5 mg de Thalidomide sous un volume de 0,1 ml. (Nous avons fait quelques essais sous 0,25 et même sous 0,5 ml, mais

(a) La Thalidomide nous a été aimablement offerte par les Laboratoires Grünenthal, Stolberg/Rheinland, Allemagne Fédérale, que nous remercions.

nous avons dû revenir au volume de 0,1 ml pour réduire autant que possible la mortalité précoce et le nombre des célosomiens).

Après quoi, l'orifice d'injection est colmaté avec de la paraffine fondue. Les œufs placés enfin à la couveuse artificielle, sont mirés et retournés quotidiennement ; les œufs stériles ou contenant des embryons morts sont cassés et leur contenu est examiné.

RÉSULTATS. — TABLEAU I

	Nombre d'œufs mis en incubation	Mortalité précoce et œufs stériles	Mortalité différée (du 7 ^e au 20 ^e j.)	Poussins à terme	
				Nombre total	Ano- malies
TEMOINS 0,1 ml. ClNa isotonique	25	6	6 dont : 3 célosomiens	13	0
THALIDOMIDE 1,5 mg. sous 0,1 ml.	75	13	5 dont : 3 célosomiens dont : (a) et (b)	57	1 (c)

(a) L'un, en outre, était exencéphale et brachygnathe supérieur.

(b) Un autre présentait des anomalies articulaires des membres pelviens.

(c) Anophtalme unilatéral avec bec croisé, atrésie palpébrale sup. gauche, brachycolle (cf. cliché).

N.B. — Dans la colonne « Mortalité précoce et œufs stériles », nous avons groupé les sujets dont le développement s'est arrêté à un stade trop précoce pour qu'un simple examen macroscopique, même minutieux, permette d'objectiver une malformation de façon indiscutable. En pratique, il s'agit là des embryons morts entre le 1^{er} et le 7^e jour d'incubation.

II. — *Expérimentation portant sur la rate.*

Alors que l'on s'accorde aujourd'hui à admettre le pouvoir tératogène de la Thalidomide chez la souris et la lapine, il n'en est pas de même chez la rate où hormis des résorptions fœtales, il n'a pas été possible aux nom-

breux expérimentateurs de mettre en évidence, de façon incontestable, des embryopathies dystrophiques dans cette espèce. Or la plupart des auteurs utilisait des doses comprises entre 125 et 500 mg/kg. Pensant que le pourcentage des résorptions observé dans ces conditions était peut-être dû à un surdosage médicamenteux incompatible avec la menée à terme des fœtus malformés et connais-



Cliché Blavignac

THALIDOMIDE 1,5 mg. sous 0,1 ml.
en injection dans l'albumen avant incubation
Anophtalmie unilat. droite, bec croisé
atrésie palpébrale supérieure gauche, brachycollie

sant la loi de la légèreté de la stimulation tératogène, nous avons cru intéressant de reprendre cette expérimentation à posologie beaucoup plus faible. Peut-être dans ces conditions allait-on observer des anomalies bénignes ?

Notre protocole vise à :

- connaître exactement le stade évolutif de la gestation des animaux d'expérience ;
- établir de façon précise le nombre des ovo-implantations de chaque femelle ;

— s'assurer que les rates absorbent chaque jour la quantité voulue du médicament ;

— dépister les anomalies éventuelles, même légères ;

— avoir connaissance du cannibalisme assez fréquent dans cette espèce, surtout lorsque dans les portées existent des nouveau-nés malformés, chétifs ou morts.

En vue de satisfaire ces exigences, nous opérons de la manière suivante :

— le soir, les femelles sont mises en présence des mâles à raison de 2 à 4 femelles pour un mâle. Le matin, les rates font l'objet d'un frottis vaginal sur lame ; fixation, coloration au Bleu de Méthylène et examen au microscope. La présence de sperme dans le vagin marque, en principe, le jour 1 de la gestation. Le frottis est alors suivi pendant 5 à 6 jours consécutifs ;

— nos rates reçoivent quotidiennement du 5^e au 15^e jour de gestation, une dose déterminée de Thalidomide en suspension aqueuse. Cette médication est administrée à la sonde œsophagienne ;

— le 10^e jour, une laparotomie exploratrice permet de compter les embryons in utero ;

— chacun des deux lots d'animaux — lot-témoin et lot traité — est divisé en deux groupes :

le premier réunit les femelles qui seront sacrifiées la veille de l'accouchement ; le second est fait de celles qui mettrons bas normalement et élèveront leur progéniture.

Dans le premier cas, les fœtus sont comptés, débarrassés de leurs enveloppes, pesés et autopsiés sous la loupe binoculaire. Dans le second, les rats nouveau-nés sont comptés, pesés et élevés jusqu'au sevrage et même au-delà tandis que l'on suit leur courbe de croissance.

Nous avons expérimenté avec deux doses différentes : 75 et 200 mg/kg et par jour. Les résultats de ces essais sont rassemblés dans les tableaux II, III et IV.

III. — *Expérimentation portant sur la chienne.*

Une chienne de race commune, âgée de 8 ans et pesant 16,7 kg a été fécondée entre le 25 et le 31 décembre.

Du 9 au 22 janvier, elle prend quotidiennement par voie orale 25 mg de Thalidomide par kg. Le médicament est administré dans une boulette de viande hachée. Au terme de la gestation qui s'est déroulée tout à fait normalement, l'animal pèse 20 kg. Après avoir présenté un phénomène de Liebenberger très net, il accouche le 5 mars — soit après une grossesse de 64 à 69 jours.

TABLEAU II
Rates-Témoins
(Wistar primipares de 170 à 270 g.)

Lot conservé :

Numéro :
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25

Nombre fœtus 10^e jour :
0 0 16 13 16 10 9 12 12 12 12 12 13 10 12 12 12 12 13 14 9 15 15 12 10

Nombre nouveau-nés :
0 0 12 10 16 8 9 10 10 12 11 12 13 9 11 12 10 10 12 13 9 14 15 12 10
Total rates 25
Total embryons à la laparotomie (10^e jour) 285
Total nouveau-nés 260
Pourcentage de résorptions tardives 8,1 p. 100
Nombre moyen de nouveau-nés par femelle saillie 10

Lot sacrifié :

Numéro :
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22

Nombre fœtus 10^e jour :
0 10 4 13 12 11 0 10 12 10 12 10 11 12 11 14 13 15 11 11 12 2

Nombre fœtus 21^e jour :
0 9 0 12 9 9 0 10 5 10 12 9 9 11 11 13 13 15 11 10 11 2

Total rates 22
Total embryons à la laparotomie (10^e jour) 216
Total fœtus 21^e jour 191
Pourcentage de résorptions tardives 11,6 p. 100
Nombre nouveau-nés par femelle saillie 8,4

TABLEAU III
Thalidomide 75 mg./kg.

Numéro	Poids des femelles vides	Nb. embryons laparotomie	Nombre de nouveau-nés
<i>Rates parturiantes :</i>			
1	230 g.	5	2
2	225	10	10
3	200	16	14
4	190	6	6
5	205	12	9
6	250	10	10
7	215	12	8
8	230	7	0
9	220	13	13
Total : 9		91	72
Pourcentage de résorptions tardives 20 p. 100			
Nombre moyen de nouveau-nés par femelle saillie 8			
<i>Rates sacrifiées :</i>			
10	200 g.	11	10
11	210	14	14
12	200	10	10
13	210	12	11
14	205	12	11
15	235	12	11
16	200	12	11
17	225	14	13
18	230	12	8
Total : 9		109	99
Pourcentage de résorptions tardives 9 p. 100			
Nombre moyen de nouveau-nés par femelle saillie 12,5			

TABLEAU IV

Thalidomide 200 mg./kg.

per os du 5^e au 15^e jour

(tous les sujets sont sacrifiés le 21^e jour)

<i>Numéro des rates</i>	<i>Nombre embryons à la laparotomie</i>	<i>Nombre de fœtus le 21^e jour</i>
1	13	12
2	11	9
3	11	10
4	12	9
5	10	7
6	13	10
7	11	11
8	10	8
9	13	11
Total : 9	104	87

Pourcentage de résorptions tardives 17,3 p. 100

Nombre moyen de nouveau-nés par femelle saillie 9,6

Les 5 chiots mis au monde — 4 femelles et un mâle — sont extérieurement parfaitement normaux. Ils pèsent à la naissance : 355, 370, 385, 400 et 495 g ; au 10^e jour, les poids respectifs sont de 650, 680, 690, 750 et 920 g. Deux d'entre eux sont alors autopsiés : aucune ectopie ou malformation viscérale n'est notée.

Au bout d'un mois, les 3 chiots restant sont à nouveau examinés : l'on n'enregistre ni microphthalmie, ni kératite, ni cataracte.

B. — Association Thalidomide - Bleu de Trypan

Expérimentation portant sur la rate.

Face à l'impossibilité d'obtenir des anomalies chez le raton, nous avons cru intéressant d'associer la Thalidomide à une autre substance douée, chez la rate, de propriétés tératogènes dans des conditions expérimentales bien codifiées. Nous nous sommes adressé au Bleu de Trypan qui est utilisé ici à dose moitié de celle préconisée par Carpent (7).

TABLEAU V

	N°	Nombre fœtus laparotomie	Nombre de nouveau-nés °
BLEU de TRYPAN	1	11	8
	2	13	13
	3	15	10
	4	11	11
	4	50	42
Pourcentage de résorptions tardives			16 p. 100
Nombre moyen de produits par femelle saillie			10,5
Association BLEU de TRYPAN- THALIDOMIDE	1	12	3
	2	13	2
	3	10	4
	4	11	0
	5	11	6
	6	13	0
	6	70	15
Pourcentage de résorptions tardives			78,5 p. 100
Nombre moyen de produits par femelle saillie			2,5



Clichés Blavignac

THALIDOMIDE-RIBOFLAVINE aa 1,5 mg.
en injection dans l'albumen avant incubation sous 0,1 ml.
Embryon mort le 20^e jour d'incubation

Opodyme tétrophtalme, brachygnathe sup. bilatéral,
exencéphale ; spina-bifida, aperta cervical, brachycollie

Le protocole expérimental est identique à celui des essais Thalidomide seule 200 mg/kg, à ceci près :

— outre le traitement à la Thalidomide, les rates font l'objet les 7^e, 8^e et 9^e jours, d'une injection sous-cutanée de 1 ml. de Bleu de Trypan au 1/200^e en sérum isotonique stérile ;

— toutes les femelles accouchent spontanément.

Résultats : cf. Tab. V.

C. — Association Thalidomide - Riboflavine (a)

Les observations cliniques de Robertson (114) permettaient de supposer que la Thalidomide est susceptible d'entrer en compétition avec un facteur du groupe vitaminique B. Leck et Millar (*Brit. Med. J.*, 1962, 2, 16) quant à eux, comparant la formule développée de la Thalidomide à celle de la vitamine B², constatent une certaine analogie structurale. Les deux molécules, en particulier, possèdent chacune un hétérocycle comportant une fraction :



Or, précisément, dans le cas de la Riboflavine, cet atome d'Azote posséderait, d'après les travaux d'Hortwitt, un pouvoir réactionnel de premier plan. Bien que les effets de la Thalidomide ne soient pas — chez la ratte en particulier — identiques à ceux de l'hypovitaminose B² (25), il nous sembla que la mise en évidence d'un éventuel antagonisme entre ces deux molécules méritait d'être tenté.

(a) La Riboflavine nous a été aimablement offerte par les Laboratoires Hoffmann La Roche, 10, rue Crillon, Paris (IV^e), que nous remercions.

RÉSULTATS. — TABLEAU VI

	Nombre d'œufs mis en incubation	Mortalité précoce et œufs stériles	Mortalité différée (du 7 ^e au 20 ^e j.)	Poussins à terme	
				Nombre total	Ano- malies
RIBOFLAVINE 1,5 mg. sous 0,1 ml.	65	13	17 dont 2 célosomiens	35	0
THALIDOMIDE RIBOFLAVINE aa 1,5 mg. sous 0,1 ml.	71	27	7 dont 3 célosomiens plus (a)	37	(b) (c) (d)

- (a) Une torsion cervicale associée à une exencéphalie.
 (b) Un anophtalme unilatérale gauche avec déviation du bec.
 (c) Un anophtalme bilatérale, brachygnathe supérieure, brachy-
 collie (cf. cliché).
 (d) Un opodyme tétrophtalme exencéphale brachygnathe supé-
 rieure bliatérale, spina bifida cervical ; brachycollie
 (cf. clichés).



Cliché Blavignac

THALIDOMIDE-RIBOFLAVINE aa 1,5 mg.
 en injection dans l'albumen avant incubation sous 0,25 ml.
 Embryon mort le 21^e jour d'incubation
 Anophtalmie bilatérale, brachygnathie
 supérieure, brachycollie

RÉSULTATS. — TABLEAU VII

	<i>Numéro des animaux</i>	<i>Nombre d'embryons au 10^e jour</i>	<i>Nombre de fœtus au terme</i>
RIBOFLAVINE administrée a) en S. C. b) per os	a) 1	13	12
	2	10	0
	3	12	11
	4	12	10
	5	13	13
	b) 6	7	5
	7	10	10
	8	13	8
	9	13	11
	Total : 9	103	80
Pourcentage de résorptions tardives			22 p. 100
Nombre moyen de produits par rate saillie			9
THALIDOMIDE per os RIBOFLAVINE administrée a) en S. C. b) per os	a) 1	12	12
	2	11	0
	3	12	12
	4	12	0
	5	12	0
	6	10	0
	b) 7	1	0
	8	7	6
	9	8	0
	10	9	6
	11	10	0
	Total : 11	104	36
Pourcentage de résorptions tardives			65,4 p. 100
Nombre moyen de produits par rate saillie			3,3

I. — *Expérimentation portant sur l'œuf embryonné.*

Nous opérons selon un protocole rigoureusement semblable à celui de l'essai « Thalidomide seule », mais ici, nous injectons :

— soit 1,5 mg de Riboflavine sous 0,1 ml,

— soit 1,5 mg de Thalidomide associée à 1,5 mg de Riboflavine, le tout sous 0,1 ml également.

II. — *Expérimentation portant sur la rate.*

Le protocole est identique à celui de l'essai « Thalidomide seule ». Mais ici deux lots sont constitués :

— le premier reçoit, du 5^e au 15^e jour, 200 mg de Riboflavine par kg ; certains animaux prennent ce médicament par la bouche, d'autres le reçoivent par voie sous-cutanée ;

— le second est traité à l'association Thalidomide-Riboflavine dans les conditions suivantes : la Thalidomide est administrée à tous les animaux, per os, du 5^e au 15^e jour à raison de 200 mg/kg, la Riboflavine est également administrée du 5^e au 15^e jour à la dose de 200 mg/kg, mais certains animaux la reçoivent par voie buccale, et d'autres, par voie sous-cutanée.

D. — *Interprétation des résultats*

Nous calculons le pourcentage de malformations chez le poulet en établissant la proportion du nombre des sujets anormaux par rapport au nombre d'embryons ayant atteint ou dépassé un stade suffisamment avancé pour permettre de déceler à l'examen macroscopique une malformation évidente. En pratique, nous avons donc éliminé des calculs les œufs classés dans la rubrique : « mortalité précoce et œufs stériles ».

Réglons de suite le problème des célosomies chez le poulet. Cette malformation est survenue fréquemment, mais il importe de souligner qu'elle se rencontre dans des proportions comparables dans tous les lots : Lot Thalidomide, lot Riboflavine, lot Thalidomide-Riboflavine et même lot-témoin. De nombreux auteurs — dont Ancel — ont montré que cette anomalie du développement survient dans cette espèce à la suite d'inoculations de solutions extrêmement diverses — y compris du sérum chloruré ou glucosé. Ils pensent que ces accidents ne présentent aucune spécificité tant qu'ils n'intéressent pas plus de 15 p. 100 des embryons ; ces célosomies seraient dues à l'inoculation expérimentale elle-même qui interviendrait peut-être par l'ébranlement qui est imprimé au contenu de l'œuf lors de l'injection. Nous avons donc exclu les célosomies de notre bilan.

Thalidomide seule.

Compte tenu de ces corrections, nos résultats obtenus sur l'embryon de poulet concordent assez exactement avec les publications antérieures. Les malformations portent sur le bec, la tête, les yeux, les paupières, le rachis et les membres ; celles-ci interviennent sur 5 p. 100 des sujets. Mentionnons une malformation qui, à notre connaissance, n'a pas été signalée : la brachycollie.

Chez le raton, il ne nous a pas été donné de constater la moindre anomalie somatique sur les fœtus et les nouveau-nés issus de femelles ayant reçu quotidiennement 75 et 200 mg/kg de Thalidomide du 5^e au 15^e jour. Des résorptions embryonnaires surviennent dans le premier cas dans une proportion moyenne de 20 p. 100 pour les femelles conservées et de 9 p. 100 pour les femelles sacrifiées ; dans le second cas, sur 17,3 p. 100 des fœtus. Chez les animaux témoins, ce phénomène se produit 10 fois sur 100. La différence n'est donc pas significative.

Chez la chienne, nous n'avons pas enregistré la moindre malformation mais en l'absence de laparotomie, il n'est pas permis d'émettre d'opinion à propos d'éventuelles résorptions précoces qui, de ce fait, se seraient produites à notre insu. De toute façon, cette unique observation n'autorise pas à conclure.

Association Thalidomide-Bleu de Trypan.

Nous avons fait quelques essais sur l'œuf de poule, mais portant sur un nombre restreint de sujets. Les résultats n'en sont pas significatifs et ne sont pas rapportés ici.

Chez la rate, le Bleu de Trypan seul utilisé à dose infratératogène provoque la mort de 16 p. 100 des fœtus ; la Thalidomide dans les conditions précisées plus haut a entraîné 17,3 p. 100 des résorptions embryonnaires. Par contre, l'association des deux engendre 78,5 p. 100 de morts embryonnaires. Il semble donc que l'on soit ici en présence d'un phénomène de conjugaison des effets embryotoxiques.

Association Thalidomide-Riboflavine.

Sur l'œuf, nous avons observé des anomalies portant sur 9 p. 100 des sujets ; celles-ci intéressent le bec, la tête, les yeux et le rachis. Mentionnons trois malformations qui, pensons-nous, n'ont jamais été enregistrées, à savoir : l'opodymie, la spina-bifida cervicale et la brachycollie.

Chez la rate, la Thalidomide est administrée dans tous les cas par voie buccale ; la Riboflavine quant à elle, l'est soit par voie sous-cutanée, soit per os. Quel que soit le mode d'administration de cette dernière, et bien que par voie sous-cutanée, celle-ci se résorbe de façon très irrégulière d'un animal à l'autre, les résultats sont presque identiques : les 2/3 des femelles résorbent totalement.

Pouvons-nous mettre nos résultats sur œuf en parallèle avec les observations de Verrette et Mc Laughlin qui travaillaient avec l'association Thalidomide-Dioxane (cf. Chap. IV) ? Nous avons vu que la Thalidomide est soluble

dans le Dioxane, aussi pensons-nous que cette dernière substance fait office de facteur de diffusion de la Thalidomide dans l'œuf, d'où l'élévation du pourcentage des sujets malformés dans ces conditions par rapport au lot traité à la Thalidomide seule. On ne peut s'étonner de constater un phénomène analogue, semble-t-il, avec une molécule si universellement répandue dans les êtres vivants et n'ayant rien de commun avec un solvant organique.

CONCLUSIONS

Le cas de la Thalidomide n'est qu'un exemple parmi la longue liste des substances embryotoxiques. Nous avons vu que dans l'espèce humaine, dans ce cas particulier, les deux notions de « Phase de sensibilité embryonnaire » et de « Légèreté de la dose tératogène » sont illustrées de façon évidente.

Chez l'animal de laboratoire, rappelons à nouveau que les résultats expérimentaux varient avec le protocole suivi ainsi qu'avec l'espèce et la souche choisie.

D'après nos essais, la Thalidomide seule a induit sur l'embryon de poulet des anomalies diverses portant sur 5 p. 100 des sujets. Chez la rate, nous avons observé des résorptions dans des proportions inappréciables ou faibles par rapport aux témoins. Notre observation portant sur la chienne n'a aucune valeur probante.

L'association Thalidomide-Bleu de Trypan a déterminé chez la rate des morts embryonnaires touchant une proportion de rats beaucoup plus forte que ne l'avaient induit chacune de ces deux substances prises individuellement.

Les effets de la Thalidomide ne sont en rien compensés par la Riboflavine. Il semble au contraire que cette dernière exacerbe la toxicité de la Thalidomide pour l'embryon. En effet, dans ces conditions, on observe une certaine élévation du nombre des sujets malformés tandis que 48 p. 100 seulement des œufs donnent naissance à un poussin viable, contre 75 p. 100 avec la Thalidomide seule.

(On ne manquera cependant pas de noter que la vitamine B², sans doute en raison de son dosage assez élevé, a engendré une proportion notable de mortalités précoces, mais n'a pourtant induit aucune malformation) ; chez la rate, ce phénomène est plus net puisque les 2/3 des femelles résorbent totalement.

Nous ne surestimons pas la valeur de notre expérimentation dont l'intérêt se trouve réduit du fait de la pauvreté relative de nos lots d'animaux (110 au total pour le rat et 235 pour l'œuf), mais en raison de la concordance des résultats sur deux espèces très différentes concernant l'association Thalidomide-Riboflavine, nous pensons qu'il y a là une double suspicion qui mériterait un complément d'expérimentation. Au reste, ce travail sera peut-être poursuivi à l'Ecole Vétérinaire au courant de cette année en vue de confirmer — ou d'infirmer — ces résultats provisoires.

Voici donc quelques essais qui, parmi bien d'autres, ne font que souligner, une fois de plus, les risques encourus par l'embryon vis-à-vis des médicaments. Devons-nous, en matière d'expertise pharmacologique, nous contenter de cette épreuve embryotoxique ? Ne faudrait-il pas en outre faire reproduire entre eux les nouveau-nés ayant l'apparence d'une saine constitution pour dépister un éventuel effet tératogène différé ? C'est du moins l'opinion de Chasagne et de Lechat. Dans le même ordre d'idées, certains toxiques ne seraient-ils pas à même de créer, dès l'âge embryonnaire, des altérations de la lignée germinale ? Il n'est pas permis de ne pas envisager cette éventualité. En effet, tout dernièrement, Dams et coll. rapportaient le cas d'un coq porteur de malformations bénignes, né d'un œuf inoculé à l'hydrocortisone, qui, croisé avec deux poulettes vierges, de race différente et n'ayant aucun lien de parenté avec lui, fit apparaître dans sa descendance une

forte proportion de sujets malformés dont certains étaient porteurs d'anomalies léthales tandis que d'autres reproduisaient exactement les malformations paternelles. (Dams R., Lapras M., Florio R. et Barone R., *Bull. Soc. Vét. et Méd. Comp. de Lyon*, 1963, 65, 219.)

Comme on le voit, le dossier de la chimiothératogénèse n'est pas clos.

Vu : LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
BERTRAND.

Vu : LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
FLORIO.

Vu :
LE DOYEN
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,
J.-F. CIER

Vu :
LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
J. DECHAUME.
PROFESSEUR
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE.

Vu et permis d'imprimer : Lyon, le 25 Mars 1964.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ
P. LOUIS

BIBLIOGRAPHIE

Chapitre II

1. ANCEL (P.). — La Chimiothératogénèse. Doin éd., Paris, 1950.
2. ASCHENHEIM (E.). — *Arsch. Kinderh.*, 1920, 68, 131.
3. BARNES (F.). — *J. Obst. Gyn.*, 1941, 48, 707.
4. BARTHÉLEIMER (H.) et KLOOS (K.-F.). — *Ztschr. gesamt. exper. Med.*, 1952, 119, 246.
5. BOCQUET (L.). — *Thérapie*, 1961, 15, 567.
6. BONHOMME (P.-J.). — *Bull. Ass. Anat.*, 1954.
7. CARPENT (G.). — *Ann. Endocr.*, 1958, 19, 904.
8. CATIZONE (O.) et GRAY (P.). — *J. Exp. Zool.*, 1941, 87, 71.
9. CHASSAGNE (P.) et Mme GEORGES-JANET (L.). — *Nouv. Rev. Hémat.*, 1962, 2, 272.
10. COHLAN (S.-Q.). — *Science*, 1953, 117, 535.
11. COURRIER (R.) et COLLONGE (A.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1951, 232, 1164.
12. DANFORTH (C.) et CENTER (E.). — *Proc. Exp. Biol. Med.*, 1954, 86, 705.
13. DAVIS (R.-E.) et MADSEN (L.L.). — *J. Nutr.*, 1941, 21, 135.
14. DAWSON (A.-B.). — *J. Exp. Zool.*, 1938, 78, 101.
15. DESCLAUX (P.), SOULAIRAC (A.) et MORLON (C.). — *Arch. Franç. Pédiatrie*, 1951, 8, n° 3.
16. DUCHESNAY (G.). — Le risque thérapeutique. Prévention et traitement des accidents. Doin éd., Paris, 1954.
17. DURKEN (A.). — *Roux Arch. Entwicklungsmech.*, 1950, 44, 278.
18. FAVRE-TISSOT (M.). — Médication psychotrope et anomalies du développement embryono-fœtal. *Thèse Doct. Méd.*, Lyon, 1963.

19. FELDMAN (M.) et WADDINGTON (C.-H.). — *J. Exp. Embry. Morph.*, 1955, 3, 44.
20. FRASER (F.-C.), FAINSTAT (T.-D.) et KALTER (H.). — *Et. Néo-nat.*, 1953, 2, 43.
21. FISCHLER (F.). — *Münch. Med. Wsch.*, 1934, 2, 1756.
22. GILLMAN (J.), GILBERT (C.), SPENCE (I.) et GILLMAN (T.). — *S. Afr. J. Med. Sc.*; 1951, 16, 125.
23. — *S. Afr. J. Med. Sc.*, 1948, 13, 47.
24. GIROUD (A.). — *Biol. Méd.*, 1955, 44, 524.
25. GIROUD (A.) et BOISSELOT-LEFÈBVRES (J.). — *Arch. Franç. Pédiatrie*, 1947, 4, 1.
26. GIROUD (A.), LÉVY (G.) et BOISSELOT-LEFÈBVRES (J.). — *Ztschr. Vitaminforsch.*, 1950, 22, 308.
27. GIROUD (A.) et MARTINET (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1954, 148, 1742.
28. GIROUD (A.), DELMAS (A.), LEFÈBVRES-BOISSELOT (J.) et PROST (H.). — *Arch. Anat. Microsc. Morph. Exp.*, 1954, 43, 21.
29. GIROUD (A.) et MARTINET (M.). — *Arch. Opht.*, 1954, 14, 247.
30. GIROUD (P.), GIROUD (A.) et MARTINET (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1954, 148, 1030.
31. GIROUD (A.) et MARTINET (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1955, 144, 1088.
32. GIROUD (A.), BOISSELOT-LEFÈBVRES (J.) et DUPUIS (R.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1961, 43, 859.
33. GIROUD (A.) et TUCHMANN-DUPLESSIS (H.). — *Path. Biol.*, 1962, 10, 119.
34. GREGG (M.-N.). — *Trans. Opht. Doc. Austral.*, 1941, 3, 35.
35. GREENE (R.-R.) et BURRILL (M.-W.). — *Amer. J. Physiol.*, 1939, 226, 510.
36. GRUMBACH (M.-M.), DUCHARME (J.-R.) et MOLOSHOK (M.-D.). — *J. Clin. Endocrin.*, 1959, 19, 1369.
37. HALE (F.). — *Am. J. Opht.*, 1935, 18, 1087.
38. HAMBURGER (V.) et HABEL (K.). — *Anat. Rec.*, 1947, 99, 569.
39. HANSBOROUGH (L.-A.). — *Growth*, 1947, 11, 177.
40. HASKIN (D.). — *Anat. Rec.*, 1948, 102, 455.
41. HERRMAN (H.). — *J. Embryo. Exp. Morph.*, 1953, 1, 291.

42. JOST (A.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1953, 236, 1510.
43. KAYE (B.-M.), ROSNER (D.-C.) et STEIN (I.-F.). — *Amer. J. Obst. Gyn.*, 1953, 65, 109.
44. LALLIER (R.). — *J. Embryol. Exp. Morph.*, 1954, 2, 323.
45. LAMY (M.), JAMMET (M.), POGNAN et SCHWEISGUTH. — *Bull. Mem. Soc. Med. Hop.*, 1943, 59, 35.
46. LANDAUER (W.). — *Sigma Xi Quart.*, 1940, 28, 171.
47. — *J. Exp. Zool.*, 1940, 188, 431.
48. — *J. Exp. Zool.*, 1945, 98, 65.
49. — *J. Exp. Zool.*, 1948, 109, 283.
50. — *J. Exp. Zool.*, 1952, 120, 149.
51. — *J. Exp. Zool.*, 1952, 120, 469.
52. LANDAUER (W.) et BLISS (C.-I.). — *J. Exp. Zool.*, 1946, 102, 1.
53. LARSSON (Y.) et STERKY (G.). — *Lancet*, 1960, 2, 1424.
54. LEHMAN (F.-E.). — *Arch. Entwickl. Mech.*, 1934, 131, 333.
55. LÉVY (M.). — *Ann. Nutr. Alim.*, 1953, 7, 167.
56. LOMBARD (J.). — *Thèse Doct. Méd.*, Nancy, 1950.
57. LEFÈBVRES (J.). — *Ann. Méd.*, 1951, 52, 225.
58. LEPKOVSKY (S.), TAYLOR (L.-W.), JUKES (T.-H.) et ALMQUIST (H.-J.). — *Hilgardia*, 1938, 20, 255.
59. MARESCH (T.). — *Wien Med. Woch.*, 1929, 79, 454.
60. MARTINS (E.-O.). — *Rev. Fac. Med. Vet. Bras.*, 1946, 3, 123.
61. MERGER (R.), PARENT (B.) et BARROT (J.). — *Thérapie*, 1961, 16, 530.
62. MILLEN (J.-W.), WOOLAM (D.-H.-M.) et LAMMING (G.-E.). — *Lancet*, 1953, 6798, 1234.
63. MINKOWSKI (A.) et SAINT-ANNE-DARGASSIES (S.). — *Et. Néo-nat.*, 1954, 3, 225.
64. MOORE (L.-A.), HUFFMAN (C.-F.) et DUNCAN (C.-W.). — *J. Nutr.*, 1935, 9, 533.
65. MOSELEY (H.-R.). — *J. Exp. Zool.*, 1947, 105, 279.
66. MOXON (A.-L.). — *South. Dakota Agr. Exp. Stat.*, 1937, 311, 1.
67. NELSON (M.-M.), ASLING (C.-W.) et EVANS (H.-M.). — *J. Nutr.*, 1952, 48, 61.
68. NISHIHARA (G.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1958, 97, 809.
69. PIKE (R.-L.). — *J. Nutr.*, 1951, 44, 191.

70. REILLY (W.-A.). — *Quart Rev. Pediatr.*, 1958, 13, 198.
71. RENNERT. — *Arch. Gynäk.*, 1881, B, XVLLL.
72. ROBERTS (E.). — *J. Exp. Zool.*, 1918, 27, 157.
73. ROMANOFF (A.-L.) et BAUERNFEIND (J.-C.). — *Anat. Rec.*, 1942, 82, 11.
74. ROSTAND (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1952, 146, 4.
75. RUNNER (M.-N.). — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1954, 15, 637.
76. SOBEL (D.-E.). — *Arch. Gen. Psych.*, 1960, 2, 606.
77. STREETER (G.-L.). — *Contr. Embryol. Carnegie Inst.*, 1930, 22, 1.
78. TAMINI (E.). — *Arch. Entwickl. Mech.*, 1943, 142, 455.
79. THIERSCH (J.-B.). — *Amer. J. Obst. Gyn.*, 1952, 63, 1298.
80. TUCHMANN-DUPLESSIS (H.) et Mme MERCIER-PAROT (L.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1962, 254, 2655.
81. WAGNER (H.-P.). — *Amer. J. Med. Sc.*, 1944, 208, 255.
82. YAMAZAKI (J.-N.), WRIGHT (S.-W.) et WRIGHT (P.-M.). — *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1954, 43, 319.
83. YOUNG (G.-A.), KITCHELL (R.-L.), LÜDKE (A.-J.) et SAUTTER (J.-H.). — *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 1955, 126, 163.
84. ZOURBAS (M.). — *Ann. Pédiatr.*, 1947, 4, 513.
85. ZWILLING (E.) et BELL (E. de). — *J. Exp. Zool.*, 1950, 115, 59.

Chapitre III

86. ALEXANDER (I.-R.-W.). — *Brit. Med. J.*, 1961, 2, 1434.
87. BECKMANN (R.). — Vortrag auf der 27^e Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft, Wien, 29 sept. 1962.
88. BECKMANN (R.). — *Arzneim. Forsch.*, 1962, 12, 1095.
89. BECKMANN (R.) et KAMPF (H.-H.). — *Arzneim. Forsch.*, 1961, 11, 115.
90. BURLEY (D.). — *Brit. Med. J.*, 1961, 2, 1286.
91. COHEN (S.). — *New Engl. J. Med.*, 1962, 266, 1268.
92. DEWITT (F.-R.-E.) et KENNY (S.). — *Lancet*, 1962, 1, 430.

93. FAIGLE (J.-W.), KÉBERLÉ (H.), RIESS (W.) et SCHIED (K.). — *Experientia*, 1962, 18, 389.
94. FARIZON (F.) et MASBERNARD (A.). — *Presse Méd.*, 1962, 70, 2053.
95. FULLERTON (M.) et KREMER (M.-D.). — *Brit. Med. J.*, 1961, 2, 855.
96. GREENE (R.) et FARRAN (H.-E.-A.). — *Brit. Med. J.*, 1958, 2, 1355.
97. HAYMAN (D.-J.). — *Brit. Med. J.*, 1961, 2, 1435.
98. HOWE (P.). — *Brit. Med. J.*, 1961, 2, 1084.
99. HEALTHFIELD (K.-W.-G.). — *Brit. Med. J.*, 1961, 2, 1084.
100. JUNG (H.). — *Arzneim. Forsch.*, 1956, 6, 430.
101. KAJII (T.). — *Lancet*, 1962, 2, 151.
102. KUHN (W.-L.) et VAN MAANEN (J.). — *Pharmacol. Exp. Therap.*, 1961, 134, 60.
103. KUNS (W.), KELLER (H.) et MÜCKTER (H.). — *Arzneim. Forsch.*, 1956, 6, 426.
104. LILICRAP (D.-A.). — *Brit. Med. J.*, 1962, 1, 477.
105. LENZ (W.). — *Deut. Med. Woch.*, 1961, 86, 2555.
106. MC BRIDE (W.-G.). — *Lancet*, 1961, 2, 1358.
107. MC GRATH (W.-R.). — *Projekt Report. Scientific Lab. Merrell Company*, mars 1962 (Vertrauliche Mitteilung).
108. MC KENZIE (R.-D.) et MC GRATH (W.-R.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1962, 109, 511.
109. *Méd. et Hyg.*, 1962, 2, 668.
110. MORGAN (B.-C.). — *Brit. Med. J.*, 1962, 1, 792.
111. MURDOCH (J.) et CAMPBELL (G.-D.). — *Brit. Med. J.*, 1958, 1, 84.
112. NEUMAN (N.). — *Conc. Med.*, 1963, 85, 1019.
113. RAFFAUF (M.-J.). — *Deut. Med. Woch.*, 1961, 86, 935.
114. ROBERTSON (F.). — *Brit. Med. J.*, 1962, 1, 792.
115. ROSENTAL (T.). — *Lancet*, 1963, 1, 724.
116. SCHIED (W.), WIECK (H.-H.), STAMMLER (A.), KLADETZKY (A.) et GIBBELS (E.). — *Deut. Med. Woch.*, 1961, 86, 938.
117. SCOTT RUSSEL (C.) et MC KICHAN (M.-D.). — *Lancet*, 1962, 1, 429.

- 118. SIMPSON (J.-A.). — *Brit. Med. J.*, 1961, 2, 1287.
- 119. SMITH (R.-L.), WILLIAMS (R.-A.D.) et WILLIAMS (R.-T.).
— *Life Sciences*, 1962, n° 7, 333.
- 120. STEWART (A.). — *Brit. Med. J.*, 1963, 1, 45.
- 121. SOMERS (G.-F.). — *Brit. Med. J.*, 1960, 15, 111.
- 122. SOUZA (L.-P. De). — *Brit. Med. J.*, 1959, 2, 635.
- 123. VILLA (L.) et ERIDANI (S.). — *Lancet*, 1963, 1, 725.
- 124. WILLIAMS (R.-T.). — *Lancet*, 1963, 1, 723.
- 125. WILLMAN (A.) et DUMOULIN (J.-G.). — *Brit. Med. J.*,
1962, 1, 477.
- 125 a GREEN (J.-N.) et BENSON (B.-C.). — *J. Pharmacol.*, 1961,
13, 117.

Chapitre IV

- 126. BIGNAMI (G.), BOVET (F.), BOVET-NITTI (F.) et ROSNATI
(V.). — *Lancet*, 1962, 2, 1333.
- 127. BONEY (A.-D.). — *Nature*, 1963, 198, 1068.
- 128. BOYLEN (J.-B.), HORNE (H.-H.) et JOHNSON (W.-J.). —
Lancet, 1963, 1, 552.
- 129. BURLEY (D.-M.). — *Lancet*, 1962, 1, 100.
- 130. CAMERON (V.-M.) et CHRISTIE (G.-A.). — *Lancet*, 1962,
2, 937.
- 131. CHRISTIE (G.-A.). — *Lancet*, 1962, 2, 249.
- 132. EHMANN (B.). — *Lancet*, 1963, 1, 772.
- 133. FELISATI (D.). — *Lancet*, 1962, 2, 724.
- 134. FERGUSON (A.-W.). — *Lancet*, 1962, 1, 961.
- 135. FOCK (D.). — *Kinderärztl. Praxis*, 1962, 30, 241.
- 136. FRENCH DEWITT (R.-E.) et KENNY (S.). — *Lancet*, 1962,
1, 430.
- 137. GIROUD (A.), TUCHMANN-DUPLESSIS (H.) et MERCIER-
PAROT (Mme L.). — *Bull. Acad. Nat. Med.*, 1962,
146, 343.
- 138. — *C. R. Acad. Sc.*, 1962, 255, 1646.
- 139. — *C. R. Soc. Franç. Biol.*, 1962, 156, 765.
- 140. — *Lancet*, 1962, 2, 298.
- 141. HAGEN (O.). — *Lancet*, 1962, 1, 501.
- 142. HEINE (W.) et KIRCHMAIR (H.). — *Dtsch. Gesundheitswesen*, 1962, 17, 1429.

143. HELM (F.). — Vortrag vor der Aerztekammer Nordrhein in Aachen am 15 Januar 1963.
144. HEPP (O.). — *Med. Klin.*, 1962, 57, 419.
145. IMHOLZ (G.) et KLOOS (K.). — *Deut. Med. J.*, 1962, 13, 414.
146. JACOBS (J.). — *Brit. Med. J.*, 1962, 2, 407.
147. JOSEPH (A.), DIPAOLO (P.-D.). — *J.A.M.A.*, 1963, 183, 139.
148. JURCZOK (F.) et SCHOLIMEYER (R.). — *Geburtsh. u. Frauenhk.*, 1962, 22, 400.
149. KEMPER (F.). — *Arzneim. Forsch.*, 1962, 12, 640.
150. KEMPER (F.). — *Lancet*, 1962, 2, 836.
151. KING (C.-T.-G.) et KENDRICK (F.-V.). — *Lancet*, 1962, 2, 1116.
152. KORSENOW (K.) et PFEIFFER (R.-A.). — *Mschr. f. Kinderh.*, 1962, 109, 227.
153. KORSENOW (K.) et PFEIFFER (R.-A.). — *Med. Welt*, 1962, 2, 68.
154. LENZ (W.). — *Deutsche Med. Woch.*, 1961, 86, 2.
155. LUCEY (J.-F.) et BEHRMANN (R.-E.). — *Sciences*, 1963, 139, 1295.
156. LUERS (H.). — *Lancet*, 1962, 2, 1332.
157. MAUSS (H.-J.) et STUMPE (K.). — *Klin. Wschr.*, 1963, 41, 21.
158. MC BRIDE (W.-G.). — *Lancet*, 1961, 2, 1358.
159. MC COLL (J.-D.), GLOBUS (M.) et ROBINSON (S.). — *Experientia*, 1963 19, 183.
160. MECKENSTOCK (E.). — *Vortrag Nordwestdtsh. Ges. f. Kinderheilkunde*, Hamburg, 29 April 1962.
161. MISCHER (W.). — *Vortrag auf der Tagung der Dtsch. Ges. f. Gynäkol.*, Hamburg, vom 9. bis 13 Okt. 1962.
162. MURPHY (M.-C.). — *Clin. Proc. of the Children Hosp.*, 1962, 18, 307.
163. NARROD (S.-A.) et KING (C.-T.-G.). — *Lancet*, 1963, 1, 1374.
164. PARKASH (O.). — *Wien. klin. Wschr.*, 1962, 74, 920.
165. PLIESS (G.). — *Lancet*, 1962, 1, 1128.
166. RAPPOPORT (A.). — *Harefuah (J. Israël Med. Ass.)*, 1962, 63, 389.

167. RIEMENSCHNEIDER (S.), BROCHMEYER (K.) et SOMMER (H.). — *Ztschr. f. Naturforsch.*, 1963; 18 b, 167.
168. ROSENAL (T.). — *Lancet*, 1963, 1, 724.
169. RUNNER (M.-N.). — *Pediatrics*, 1959, 23, 245.
170. SALZGEBER (Mlle B.) et SALAÜN (Mlle J.). — *Presse Med.*, 1963, 71, 1488.
171. — *C. R. Acad. Sc.*, 1963, 256, 2719.
172. — *C. R. Acad. Sc.*, 1963, 257, 273.
173. SCOTT RUSSEL (C.) et MC KICHAN (M.-D.). — *Lancet*, 1962, 1, 429.
174. SELLER (M.-J.). — *Lancet*, 1962, 1, 249.
175. SMITHELLS (R.-W.), TREVOR BURNETT (N.) et STABLER (F.). — *Lancet*, 1962, 1, 591.
176. SOMMERS (G.-F.). — *Lancet*, 1962, 1, 912.
177. — 11^e Ungarische Konferenz für Therapie und pharmakologische Prüfung, Budapest, 2. bis 7. Okt. 1962.
178. SPENCER (K.-E.-V.). — *Lancet*, 1962, 2, 100.
179. STAEMMLER (M.) et LAGLER (F.). — Vortrag auf der 128. Tagung der Mittelrhein. Ges. f. Geburtshilfe und Gynäkologie, Trier, 6. Mai 1962.
180. STAEMMLER (M.) et HELM (F.). — Jahrestagung der Norddeutschen und Westdeutschen Pathologen in Goettingen, vom 26. bis 28. Okt. 62.
181. STEWART (A.). — *Brit. Med. J.*, 1963, 1, 123.
182. TAUSSIG (B.-H.). — *J.A.M.A.*, 1962, 180, 1106.
183. THISSEN (E.). — Vortrag auf der Tagung der Nordrhein-Westf. Ges. f. Kinderheilkunde, Munster, 6. Mai 1962.
184. TOENDURY (G.). — 142 Jahresversammlung der Schweizer Naturforscher, Unterengadin, vom 7. bis 9 April 1962.
185. TSUDA (F.), ABE (K.), KOKUBUN (K.), HASHIMOTO (T.) et NEMOTO (H.). — *Lancet*, 1963, 1, 726.
186. VERRETTE (S.) et MC LAUGHLIN (J.). — *Fed. Proc.*, 1963, 22, 188.
187. WEICKER (H.) et HUNGERLAND (H.). — *Deut. Med. Woch.*, 1962, 87, 992.
188. WEICKER (H.), BACHMANN (K.-D.), PFEIFFER (R.-A.) et GLIESS (J.). — *Deut. Med. Woch.*, 1962, 87, 1957.
189. WIEDMANN (H.-R.). — *Med. Welt*, 1961, 37, 1863.

190. WILLIAMSON (A.-P.), RUSSEL (J.), BLATTNER (R.-J.) et LUTZ (Mlle H.-R.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1963, 112, 1022.
191. WOOLAM (D.-H.M.). — *Brit. Med. J.*, 1962, 2, 236.
192. YANG (T.-J.), YANG (T.-S.) et LIANG (H.-M.). — *Lancet*, 1963, 1, 552.

Références bibliographiques hors texte :

- BARONE (R.). — Cours magistral de tératologie descriptive. *Ecole Nat. Vét. de Lyon*, 1960-1961.
- BERTRAND (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1960, 154, 2309.
— *C. R. Soc. Biol.*, 1961, 155, 514.
- CAUJOLLE (F.). — Conférence prononcée à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon, le 17 janvier 1963.
- CHAMBON (Y.). — *Ann. Endocr.*, 1955, 16, 912.
- CHASSAGNE (P.). — *Thérapie*, 1961, 16, 507.
- CHASSAGNE (P.) et LECHAT (P.). — *Thérapie*, 1962, 17, 743.
— *Conc. Méd.*, 1962, n° 42, 5477.
- CRISTOL (R.). — *Gaz. Méd.*, 1963, 70, 3549.
- FAVE (A.). — *Thérapie*, 1964 (à paraître).
- FAVRE-TISSOT (M.), BROUSSOLLE (P.), ROBERT (J.-M.) et DUMONT (L.). — *Ann. Médico-psycholog.*, 1964 (à paraître).
- FLORIO (R.). — Conférence prononcée à l'Institut de Pharmacie Industrielle de la Faculté de Pharmacie de Montpellier, 4 fév. 63.
- ROBERT (J.-M.) et NOTTER (A.). — *Lyon Méd.*, 29 déc. 1963, p. 1339.
- TUCHMANN-DUPLESSIS (H.). — *Presse Méd.*, 1962, 70, 1521.
— *Presse Méd.*, 1963, 71, 145.
- TUCHMANN-DUPLESSIS (H.) et Coll. — *Méd. et Hyg.*, 1963, 21, 403.
- VAILLE (C.). — *Presse Méd.*, 1962, 70, 1899.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	11
CHAPITRE PREMIER. — Quelques accidents de la gestation	15
CHAPITRE II. — Les Tératogènes	17
Définition	17
Nature, effets	17
Classification, modalités d'action	24
CHAPITRE III. — La Thalidomide	33
Etude pharmacodynamique	33
Propriétés physico-chimiques	33
Etude toxicologique	34
Métabolisme, propriétés sédatives et autres ..	34
Etude clinique	43
Succès et accidents thérapeutiques	43
CHAPITRE IV. — Embryopathies à la Thalidomide	51
Thalidomide, substance tératogène chez l'homme ..	51
Thalidomide, substance tératogène chez l'animal ..	55
Résultats acquis	55
Expérimentation personnelle	65
Thalidomide seule	65
— Sur l'œuf embryonné	65
— Sur la rate	66
— Sur la chienne	69

Association Thalidomide-Bleu de Trypan	72
— Sur la rate	72
Association Thalidomide-Riboflavine	74
— Sur l'œuf embryonné	77
— Sur la rate	77
CONCLUSIONS	81
BIBLIOGRAPHIE	85

